

**Univerzita Karlova v Praze  
Přírodovědecká fakulta  
Ústav pro životní prostředí**

Studijní program: Ekologie a ochrana životního prostředí  
Studijní obor: Ochrana životního prostředí



Diplomová práce

**Vývoj chemických a mikrobiálních vlastností půd  
rekultivovaných a nerektivovaných travních porostů**

*Soil chemical and microbial properties in reclaimed and unreclaimed grasslands*

**Bc. Barbora Čížková**  
Školitel: **prof. Ing. Mgr. Jan Frouz, CSc.**

Srpen 2014

Prohlašuji, že jsem tuto diplomovou práci vypracovala samostatně s využitím uvedené literatury a informací, na něž odkazuji. Svoluji k jejímu zapůjčení s tím, že veškeré (i přejaté) informace budou řádně citovány. Rovněž prohlašuji, že předložená diplomová práce je totožná s elektronickou verzí vloženou do SIS.

V Praze, 15. 8. 2014

.....  
Barbora Čížková

#### **Poděkování:**

V první řadě bych chtěla poděkovat svému školiteli prof. Ing. Mgr. Janu Frouzovi, Csc. za ochotu, trpělivost a spoustu cenných rad, dále pak Luďkovi Bujalskému a Jardovi Kuklovi za pomocnou ruku při odběru vzorků, dále pak Hance Šimáčkové a Saše Špaldoňové za pomoc v laboratoři a v neposlední řadě rodině, partnerovi a přátelům za jejich trpělivost a podporu při studiu.

## Abstrakt

Pro úspěšnou obnovu stabilních ekosystémů na výsypkách je potřeba znovuvytvořená plně funkční půda. Výsypkové substráty však často mají nevhodné zrnitostní složení, extrémní pH nebo jsou toxické. Také postrádají důležitou recentní organickou hmotu, která zlepšuje celkovou kvalitu půdy a je proto nezbytná pro vznik kvalitní a úrodné půdy. Proto je obnova ekosystémů na výsypkách zpočátku velmi pomalá. Pro urychlení tohoto procesu byla vynalezena řada rekultivačních opatření – například navážka ornice na výsypkové substráty. Díky přítomné organické hmotě v ornici je vznik půdy rychlejší a mnohdy se svými fyzikálně – chemickými vlastnostmi pak výrazně neliší od vyvinutých půd. Na Velké podkrušnohorské výsypce již byla provedena řada prací na téma vývoje půd, žádná z nich se však netýkala travních porostů. Cílem této práce tedy bylo získat ucelené informace o vývoji chemických a mikrobiálních vlastností půd, které byly rekultivované navážkou ornice a následně zatravněné a porovnat je s vývojem na plochách zarostlých spontánní sukcesí.

Bylo zjištěno, že celkový obsah uhlíku roste s časem jen u rekultivovaných ploch a největší nárůst je v hloubce 13-18 cm. Objemová hmotnost klesá s časem u obou chronosekvencí do hloubky 12 cm. Nárůst celkového obsahu dusíku byl pozorován taktéž u obou chronosekvencí, ale u rekultivovaných ploch byl výraznější. Obsah fosforu v nejhlubší vrstvě rekultivovaných ploch klesá, celkový však zůstává víceméně stejný u obou chronosekvencí. Mikrobiální parametry nevykazují žádný výrazný vývoj.

**Klíčová slova:** výsypky, rekultivace, ornice, půdní organická hmota, chemické a mikrobiální vlastnosti

## ***Abstract***

*For successful restoration of unstable ecosystems in the dumps recreating a fully functioning landscape is needed. Dump substrates often have poor grain composition, extreme pH or are toxic. They also lack important recent organic matter, which improves the overall quality of the soil and is therefore necessary for the development of quality and fertile soil. Therefore, restoration of ecosystems in the dumps is initially very slow. A number of reclamation measures was invented to accelerate this process - for example, heaping up of topsoil to dump substrates. With organic matter present in the topsoil soil formation is faster and often with their physical and chemical properties differ significantly from then developed soils. There has already been number of works written considering development of soils on the Velká podkrušnohorská výsypka so far, none of which, however, did not affect grasslands. The aim of this work was to obtain complete information about the development of chemical and microbial properties of soils that were recultivated by reclaimed topsoil and grassed and then to compare them with developments in the areas of overgrown spontaneous succession.*

*It was found that the total carbon content increases with time only in the reclaimed areas and maximum of the increase is in the depth of 13-18 cm. Density decreased with time in both chronosequences until the depth of 12 cm. The increase in total nitrogen content was also observed in both chronosequences, but it was significant on reclaimed areas. The phosphorus content in the deepest layer of reclaimed areas is declining, overall remains more or less the same in both chronosequences. Microbial parameters show no significant development.*

***Keywords:*** *dumps, reclamation, topsoil, soil organic matter, chemical and microbial properties*

# Obsah

<b>1. Úvod</b>	<b>6</b>
1.1. Cíle	8
1.2. Hypotézy	8
<b>2. Literární přehled</b>	<b>9</b>
2.1. Obnova ekosystémů na výsypkách	9
2.1.1. Vliv těžby na ekosystémy	9
2.1.2. Rekultivace	10
2.1.3. Přirozená obnova, přírodě blízké způsoby obnovy	14
2.2. Význam půdní organické hmoty	15
2.2.1. Definice	15
2.2.2. Význam organické hmoty v půdě	17
2.3. Význam půdní organické hmoty a půdního organického uhlíku v obnově ekosystémů na výsypkách	18
2.3.1. Tvorba půdy na výsypkách	18
2.3.2. Akumulace organické hmoty na výsypkách	19
2.4. Metody stanovení akumulace půdní organické hmoty na výsypkách	21
<b>3. Materiál a metody</b>	<b>26</b>
3.1. Popis lokality	26
3.2. Odběr vzorků	27
3.3. Laboratorní stanovení	29
3.3.1. Objemová hmotnost půdy	29
3.3.2. Stanovení obsahu C a N	29
3.3.3. Stanovení obsahu P	30
3.3.4. Měření pH	30
3.3.5. Stanovení bazální respirace půdy titrační metodou	30
3.3.6. Stanovení uhlíku mikrobiální biomasy fumigačně extrakční metodou	32
3.3.7. Obsah ergosterolu	33
3.4. Statistické zpracování	35
<b>4. Výsledky</b>	<b>36</b>
4.1. Objemová hmotnost půdy	36
4.2. Obsah uhlíku, celková zásoba uhlíku	36
4.3. Obsah dusíku, celková zásoba dusíku	38
4.4. Obsah fosforu, celková zásoba fosforu	39
4.5. Hodnota pH	41
4.6. Mikrobiální respirace půdy	41
4.7. Uhlík mikrobiální biomasy	42
4.8. Obsah ergosterolu	43
<b>5. Diskuze</b>	<b>44</b>
<b>6. Závěry</b>	<b>50</b>
<b>7. Seznam použité literatury</b>	<b>52</b>

# 1. Úvod

V dnešní době je těžba nepostradatelnou součástí našeho života. V roce 2012 bylo na území České republiky 521 km<sup>2</sup> dosud nezrekultivovaných ploch s projevy těžby po výhradních ložiscích, 222 km<sup>2</sup> ploch, na kterých byla od začátku těžby rekultivace ukončena a 95 km<sup>2</sup> ploch, na kterých se v daném roce začala rekultivace rozpracovávat. Při získávání těchto surovin se však muselo zničit značné množství recentní půdy a cenných ekosystémů. Nenahraditelnou složkou životního prostředí je právě půda, která má velké množství důležitých rolí. Podílí se například na globálním koloběhu látek, transformaci látek, na zadržování vody v ekosystémech, je útočištěm pro celou řadu organismů a pro lidstvo je nepostradatelným zdrojem produkce potravin. Dá se říct, že nejdůležitější složkou půdy je půdní organická hmota. Ta zajišťuje její úrodnost, tvoří půdní agregáty, vyživuje půdní organismy a celkově ovlivňuje nejen její vodní a vzdušný režim, ale také i fyzikální a chemické vlastnosti. Půdní organická hmota má rovněž nezastupitelnou roli v koloběhu uhlíku.

V České republice platí zákon č. 334/1992 Sb., o ochraně zemědělského půdního fondu, který nařizuje půdu zdevastovanou těžbou nerostných surovin, ale i některými dalšími antropogenními zásahy po ukončení činnosti zrekontrovat. Dále pak nařizuje před začátkem těžby skrýt vrchní vrstvu půdy a následně ji pak využít při rekultivacích.

Rozvoj půdy na výsypkách, které nejsou zrekontrovány navedením ornice, je však zpočátku velmi pomalý. Výsypkové substráty totiž neobsahují téměř žádnou recentní půdní organickou hmotu, mají často extrémní zrnitostní složení, extrémní pH, obsahují těžké kovy a nemají žádnou půdní strukturu. Právě kvůli snaze urychlit rozvoj půd a vznik ekosystému na těchto místech bylo vynalezeno značné množství rekultivačních opatření, mezi které patří i již zmíněné navážení ornice. Na takovýchto extrémních stanovištích je navedení ornice většinou jediné možné řešení, jak dané místo zúrodnit. Navážka ornice se též využívá k obnově zemědělských půd. Mocnost navážené ornice se určuje podle její kvality a kvality výsypkové zeminy. Pohybuje se v rozmezí od 30 do 40 cm. Předpokladem pro tento způsob rekultivace je kvalitně urovnaná pláň. Toto opatření však má i své nevýhody. Jde především o utužování půd během manipulace s ornicí, které pak brání rozvoji kořenového systému rostlin, ekonomickou náročnost či nižší biodiverzitu na rekultivovaných plochách.

Předpokladem pro úspěšnou obnovu stabilních ekosystémů na výsypkách je tedy znovuvytvoření plně funkční půdy.

Na Velké podkrušnohorské výsypce již byla provedena celá řada vědeckých prací, které se však většinou týkaly jen půdy pod lesními porosty, žádná z nich se však nezabývala půdou pod travními porosty a tudíž o jejím vývoji a vlastnostech zatím nemáme žádné ucelené poznatky. Ve své diplomové práci se tudíž zabývám vývojem chemických a mikrobiálních vlastností půd travních porostů na rekultivovaných a nerektivovaných výsypkách a jejich vývojem v čase.

## 1.1. Cíle

Cílem mé diplomové práce je získat ucelené informace o vývoji chemických a mikrobiálních vlastností půd na výsypkách, které byly rekultivované navážkou a následně zatravněné jetelotravní směsí, a porovnat je s plochami, které zarostly spontánní sukcesí s převažujícím výskytem třtiny křovištní (*Calamagrostis epigejos*).

Dalším cílem je porovnat, jak se tyto půdní parametry vyvíjejí v čase.

## 1.2. Hypotézy

- (1) Na rekultivovaných plochách je rozvoj půdně biologických vlastností rychlejší než na nerektivovaných.
- (2) Uhlík, dusík a fosfor se v půdě akumulují rychleji na rekultivovaných plochách.
- (3) Časem se rozdíly na rekultivovaných a nerektivovaných plochách budou zmenšovat.
- (4) Akumulace uhlíku, dusíku a fosforu bude rychlejší v povrchových horizontech než v hlubších.



## 2. Literární přehled

### 2.1. Obnova ekosystémů na výsypkách

#### 2.1.1. Vliv těžby na ekosystémy

Povrchová těžba způsobuje narušování nebo dokonce úplnou destrukci ekosystémů, které jsou buď odtěženy nebo převrstveny hlušinou (Helingerová et al., 2010). Při tom dochází k zániku vegetace, půdního pokryvu a asociované fauny a tím pádem i k výraznému poklesu biodiverzity (Frouz 1999). Odtěžená hlšina z lomů vykazuje velmi nízkou biologickou aktivitu a znovuvytvoření plně funkční půdy je předpokladem pro úspěšnou obnovu stabilních ekosystémů na výsypkách (Helingerová et al., 2010).

Sypáním zakladačů v pásích vznikají při zakládání výsypek mezi pásy deprese, které jsou velmi příznivé z hlediska geo a biodiverzity. Vzhledem k tomu, že se tato místa nerektivují zarovnáním a nasypáním ornice a jsou ponechána spontánní sukcesi, vyskytují se zde často vzácné druhy organismů vázané na extrémní stanoviště. Na zarovnaných plochách hrozí během spontánní sukcese expanze nežádoucích druhů. Jedná se především o třtinu křovištní (*Calamagrostis epigejos*), která dokáže vytvořit kompaktní porost a zabránit tím další sukcesi (Řehounek et al., 2010; Tropek et al., 2012).

I když rekultivace nemusí být pro diverzitu přínosem (Tropek et al., 2012), napomáhá rychlejšímu rozvoji půd, snižuje erozi, ale na druhou stranu zabraňuje rychlejšímu odtoku nežádoucích látek, zejména kyselých železitých vod, mimo výsypku (Frouz, 1999).

## 2.1.2. Rekultivace

V současné době je v platnosti několik zákonů týkajících se rekultivačních opatření. Jde především o zákon č. 44/1988 Sb., o ochraně a využití nerostného bohatství (horní zákon), který ukládá těžebním společnostem povinnost vytvářet finanční rezervy pro činnosti, které budou provedeny po ukončení těžby (Řehounek et al., 2010). Dále se pak jedná o zákon č. 334/1992 Sb., o ochraně zemědělského půdního fondu. Tento zákon nařizuje půdu zdevastovanou těžbou nerostných surovin či jinými antropogenními zásahy po ukončení činnosti zrekultivovat (Vráblíková & Vráblík, 2008).

Rekultivace využívané v současné praxi se prakticky dají rozdělit do 4 hlavních skupin – technické, zemědělské, lesnické a vodohospodářské (Gremlica et al., 2013; Řehounek et al., 2010; Štýs, 1981).

**Technickou rekultivací** se rozumí náročné technické úpravy, které se provádějí na území zdevastovaném či degradovaném těžbou nebo jinými antropogenními aktivitami. Jedná se především o přemísťování ohromných množství skrývkových zemin, které vznikají při těžbě hnědého a černého uhlí, zahlazování a odstraňování skalnatých ploch etází, strhávání svislých těžebních stěn, zavážení lomů výkopovými zeminami a další přípravy pro následné zemědělské či lesnické rekultivace (Gremlica et al., 2013).

Velkými nedostatky těchto plošných rekultivací jsou extrémní snížení morfologické diverzity terénu, naprostá devastace cenných biotopů vytvořených na příhodných lokalitách v době mezi těžbou a začátkem rekultivačních prací; likvidace vhodných prostředí pro vzácné druhy - např. výr velký (*Bubo bubo*) – likvidace skalních převisů a puklin v lomech (Gremlica et al., 2013).

**Lesnické rekultivace** jsou jedním z dominantních typů rekultivací. Jejich provedení a konečný výsledek by měl být v souladu se zákonem č. 289/1995 Sb., o lesích a o změně a doplnění některých zákonů (lesní zákon), ve znění pozdějších předpisů a vyhlášky ministerstva zemědělství České republiky č. 77/1996 Sb., o náležitostech žádosti o odnětí

nebo omezení a podrobnostech o ochraně pozemků určených k plnění funkcí lesa (Gremlica et al., 2013).

Lesnické rekultivace se nejčastěji provádějí na svazích (Frouz et al., 2007). Samotné rekultivaci předchází chemická a mechanická příprava půdy, pak následuje výsadba dřevin (Gremlica et al., 2013) doprovázená ochrannými opatřeními proti okusu zvěří, hnojením, ožínáním, okopáváním a závlahami. Po završení decénia se provádí prořezávka porostů a případně i tvarové řezy. Nejčastěji se vysazují monokultury borovice lesní (*Pinus sylvestris*) kvůli těžbě kvalitního dřeva bez suků, které vzniká při růstu stromů v hustém zápoji. Dále jsou monokulturně vysazovány například dub letní (*Quercus robur*), dub zimní (*Quercus petraea*), javor klen (*Acer pseudoplatanus*), olše lepkavá (*Alnus glutinosa*) nebo smrk ztepilý (*Picea abies*). Často se ale k výsadbám používají i nepůvodní druhy jako je borovice černá (*Pinus nigra*), javor jasanolistý (*Acer negundo*), pajasan žláznatý (*Ailanthus altissima*) nebo dokonce i invazní neofyt trnovník akát (*Robinia pseudoacacia*) (Frouz et al., 2007; Gremlica et al., 2013).

V současnosti jsou bohužel při chemické a mechanické přípravě před lesní rekultivací likvidovány ekologicky cenné porosty náletových dřevin, které by danou plochu druhově obohatily. Tímto se však vysazované monokultury stávají ekologicky bezcennými (Gremlica et al., 2013).

**Zemědělské rekultivace** se týkají především ploch, které byly dočasně odňaty ze zemědělského půdního fondu a ve schváleném Plánu rekultivace území dotčeného těžbou se předpokládá jejich další zemědělské využití (Gremlica et al., 2013). Zákon č. 334/1992 Sb. o ochraně zemědělského půdního fondu nařizuje odděleně skrývat svrchní kulturní části půdy, popřípadě i hlouběji uložené zúrodnění schopné zeminy na celé dotčené ploše a postarat se o jejich hospodárné využití nebo řádné uskladnění pro účely rekultivace anebo zajistit na vlastní náklad jejich odvoz a rozproštění na plochy určené orgánem ochrany zemědělského půdního fondu. Dále pak nařizuje po ukončení povolení nezemědělské činnosti neprodleně provést takovou terénní úpravu, aby dotčená půda mohla být rekultivována a byla způsobilá k plnění dalších funkcí v krajině podle schváleného plánu rekultivace (Gremlica et al., 2013).

Dříve se prováděly jednoduché zemědělské rekultivace přímo na výsypkových substrátech bez využití skrývkové ornice. Přibližně od 60. let 20. století se ale ornice začala využívat pro urychlení tvorby zemědělsky využitelných a úrodných půd (Gremlica et al., 2013). Dá se říci, že navezením ornice se zrychlí počáteční rozvoj půd na výsypkách (Borůvka et al., 2012). Rekultivace spočívá v rozvezení ornice po urovnané ploše, následuje pak orba, vláčení, smykování, sije přípravných plodin, zaorání, hnojení a nakonec pěstování plodin či zatravnění pozemků (Frouz et al., 2007; Gremlica et al., 2013). Zpravidla se na plochu naváží přibližně 30-40 cm ornice sejmuté při záborech, záleží však na její kvalitě a na kvalitě výsypkového substrátu. Bylo zjištěno, že není vhodné navézt ornici na ihned po založení výsypky, ale je vhodné počkat několik let, než výsypka sesedne (Dimitrovský, 1976). V některých případech se zemědělské rekultivace dají provádět rovnou na výsypkovém substrátu. Jedná se například o výsypky v okolí Sokolova, kde se nacházejí cyprisové jíly patřící do terciární sedimentace. Tyto jíly mají vhodný obsah organických látek a mineralogické složení. Díky tomu se dají přímo na výsypkových substrátech realizovat některé druhy biologických rekultivací bez navezení ornice (Frouz et al., 2007).

Tento způsob rekultivace má však i svoje nevýhody, mezi které patří například utužení půdy při rozvážení ornice po výsypce či potlačení diverzity (Frouz, 2011b).

**Vodohospodářské rekultivace** (hydrické) se v poslední době využívají především u velkých důlních jam a terénních depresí, kdy dochází k jejich zaplavování. Vodohospodářské rekultivace byly vždy součástí rekultivačních projektů. Pomocí stavebně-technických opatření se tak v rekultivované krajině utváří nový vodní režim. Jejich postup upravuje zákon č. 254/2001 Sb., o vodách a o změně některých zákonů (vodní zákon), ve znění pozdějších předpisů a vyhláška č. 590/2002 Sb., o technických požadavcích pro vodní díla, ve znění pozdějších předpisů. Mimo velkých nádrží jsou budována i menší díla jako jsou například zpevněné i nezpevněné záchytné příkopy, odvodňovací kanály, retenční nádrže apod. Které spolu s velkými nádržemi udržují vodu v krajině, jsou významné jako protipovodňová opatření a přispívají ke změně místního mikroklimatu. Velké nádrže však z větší části ale také slouží k rekreačním a sportovním účelům. Velkou nevýhodou těchto

rekultivací je nepřítomnost přírodních a přírodě blízkých ekosystémů a nízká ekologická stabilita krajiny vytvářené v okolí jezer (Gremlica et al., 2013).

Tab. 1. Vývoj rekultivací po těžbě nerostných surovin v ČR, upraveno dle (Starý et al., 2013)

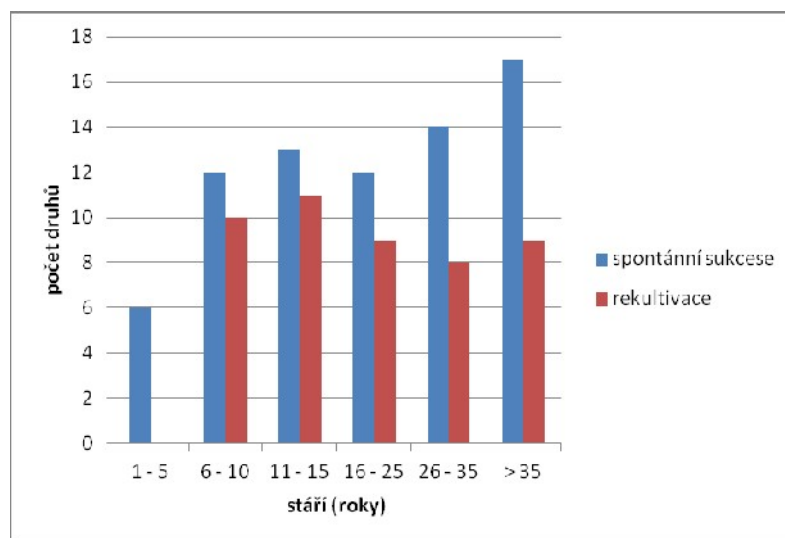
ložiska		km <sup>2</sup>	2008	2009	2010	2011	2012
výhradní	plocha s projevy těžby, dosud nerekulitovaná		637	642	551	538	521
	rozpracované rekultivace		115	115	105	109	95
	rekultivace ukončené od počátku těžby		195	204	213	209	222
	rekultivace ukončené v daném roce		11	11	11	11	5
nevýhradní	plocha s projevy těžby, dosud nerekulitovaná		16	15	17	13	13
	rozpracované rekultivace		3	2	3	3	3
	rekultivace ukončené od počátku těžby		2	2	3	2	2
	rekultivace ukončené v daném roce		0,2	0,5	0,2	0,2	0,1

Tab. 2. Rekultivace po těžbě výhradních ložisek nerostných surovin ve vybraných krajích v roce 2012, DP = dobývací prostor, údaje jsou v hektarech, upraveno dle (Starý et al., 2013)

kraj	rekultivace rozpracované								rekultivace ukončené							
	zemědělské		lesní		vodní		ostatní		zemědělské		lesní		vodní		ostatní	
	v DP	mimo DP	v DP	mimo DP	v DP	mimo DP	v DP	mimo DP	v DP	mimo DP	v DP	mimo DP	v DP	mimo DP	v DP	mimo DP
Středočeský	186	1	183	14	18	0	32	2	391	39	73	N/A	128	1	77	23
Karlovarský	73	137	645	1332	1	6	54	18	327	1047	841	1576	563	26	107	33
Ústecký	620	198	1652	907	340	19	810	482	1471	2128	1772	3397	404	218	899	1538
Jihomoravský	155	3	49	6	2	0	21	9	495	33	175	21	8	0	23	8
Moravskoslezský	24	1	474	23	72	0	215	12	865	67	685	34	344	5	312	13
ČR celkem	1215	345	3272	2385	550	27	1199	523	3929	3549	4116	5116	2073	256	1625	1655

### 2.1.3. Přírozená obnova, přírodě blízké způsoby obnovy

Přírozená obnova je považována za nejjednodušší a nejlevnější způsob obnovy území narušených těžbou (Prach & Pyšek, 2001; Řehounek et al., 2010). Ve srovnání s rekultivační výsadbou, která přináší do krajiny, jak je již zmíněno výše, řadu nepůvodních druhů, zahrnuje spontánní sukcese přírozené biotopy a lokální populace (Frouz, 2011b). Z řady vědeckých prací a praxí ověřených metod se dá usuzovat, že většina míst, která jsou narušená těžbou, se může samovolně obnovit v podobném časovém horizontu, který není o tolik delší než realizace klasických rekultivací (Gremlica et al., 2013). Na rozdíl od míst zrekultivovaných vykazují místa zarostlá spontánní sukcesí vyšší přírodní hodnotu (Prach & Pyšek, 2001). Vyskytuje se na nich totiž většinou více druhů (Řehounek et al., 2010). Překvapivě se v iniciálních stádiích obnovy vyskytuje na výsypkách celá řada zákonem chráněných vzácných druhů, které v okolní krajině chybějí (Frouz, 1999; Tropek et al., 2012).



Obr. 1. Porovnání počtů druhů cévnatých rostlin na rekultivovaných a nerektivovaných plochách o velikosti 25m<sup>2</sup> na mosteckých výsypkách (Hodačová & Prach, 2003 in Řehounek et al., 2010).

Mezi přírodě blízké způsoby obnovy se dají zařadit rekultivace založené na využívání spontánní sukcese, usměrňované (řízené) sukcese a eventuálně i managementové zásahy

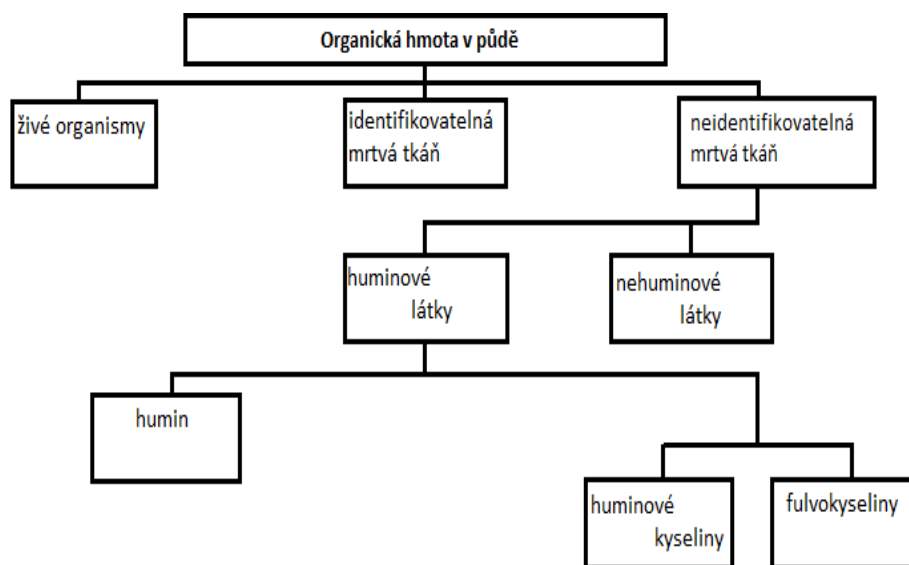
podporující ohrožená společenstva či druhy. Cíli takto prováděných rekultivací bývají chráněné druhy rostlin a živočichů, pro které jsou oligotrofní biotopy na výsypkách vhodné životní prostředí; zachování již vzniklých a z hlediska ochrany přírody velmi cenných přírodě blízkých ekosystémů; ponechání zdevastovaných či narušených území s vhodnou morfologií – např. terénní deprese s periodickými tůněmi – přirozenému vývoji, který dá vzniknout přírodě blízkým ekosystémům, které budou hrát významnou roli ekostabilizačních prvků v nově vytvořené krajině. Tyto cíle jsou v souladu se zákonem č. 114/1992 Sb., o ochraně přírody a krajiny ve znění pozdějších předpisů (Gremlica et al., 2013), podle tohoto zákona obnovou a vytvářením nových přírodně hodnotných ekosystémů, například při rekultivacích a jiných velkých změnách ve struktuře a využívání krajiny, zajišťuje ochrana přírody a krajiny.

I když jsou přírodě blízké způsoby obnovy nejvhodnějšími alternativami technických, lesnických i zemědělských rekultivací (Gremlica et al., 2013), bohužel se cíleně využívají jen zřídka a naprostá většina lokalit se spontánně vyvíjí z úplně jiných důvodů, jako je například nedostatek financí či plánování další těžby (Jongepierová et al., 2012).

## 2.2. Význam půdní organické hmoty

### 2.2.1. Definice

Organická hmota vyskytující se v půdě se dá rozdělit do dvou hlavních složek – živé a neživé, přičemž do živé složky se zahrnují půdní organismy (edafon) a podzemní části rostlin a do neživé odumřelé části rostlin a živočichů. Půdní organickou hmotou se však většinou označuje jen neživá část organické hmoty v půdě podléhající rozkladu (Brady & Weil, 2008). Ta se do půdy dostává dvěma hlavními způsoby, buď jako opad z nadzemních částí rostlin nebo jako odumřelé podzemní orgány rostlin (Plichta & Gurtowski, 1989). Jedná se tedy o jednotný pojem, který se používá pro označení organické části půdy tvořené složitou směsí látek (Brady & Weil, 2008, Simpson & Simpson 2012).



Obr. 2. Rozdělení organické hmoty v půdě, upraveno dle (Brady & Weil, 2008)

**Identifikovatelnou mrtvou tkání** (taktéž detritus) se označují organické zbytky rostlin (kořeny, listy apod.), které se ještě dají rozpoznat (Brady & Weil, 2008).

**Neidentifikovatelná mrtvá tkáň** je tvořena amorfní a koloidní směsí složitých organických látek. Tato směs se již nedá identifikovat jako tkáň a můžeme ji označit jako *půdní humus*. Ten se skládá z *humínových a nehumínových látek* (Brady & Weil, 2008).

**Nehumínovými látkami** bývá označována skupina identifikovatelných biomolekul vyrobených především mikrobiální činností. Tvoří přibližně 20-30% půdní organické hmoty. Jedná se například o polysacharidy a polymery, které mají stavbu podobnou cukrům (Brady & Weil, 2008).

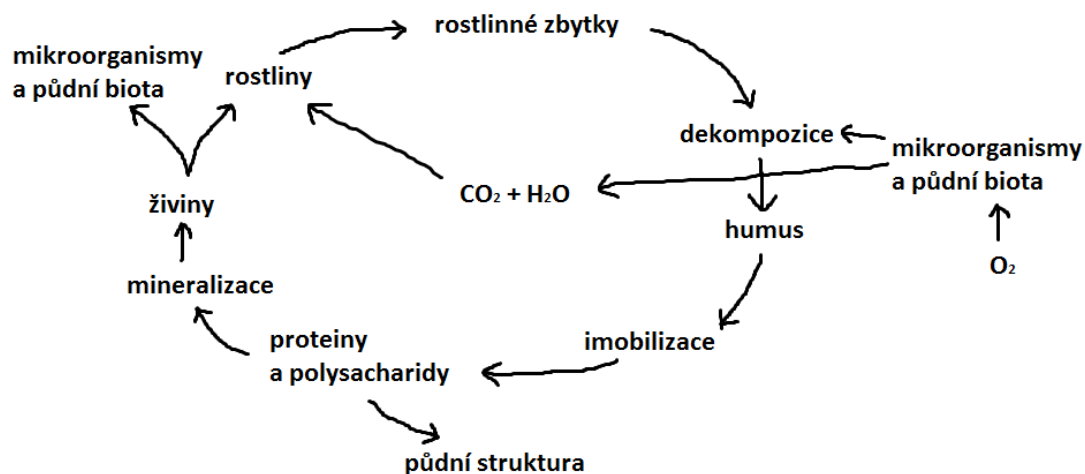
**Humínové látky** jsou velkomolekulární látky, které mají různé složení a strukturu. Jsou většinou tmavě zbarvené a mají vysokou molekulární hmotnost (2000 až 300 000 g/mol). Díky své velikosti jsou také velmi odolné vůči mikrobiálnímu rozkladu. Humínové látky se dělí na *fulvokyseliny*, *humínové kyseliny* a *humín* (Brady & Weil, 2008).



### 2.2.2. Význam organické hmoty v půdě

I když organická hmota v půdě tvoří v průměru pouze 2-5% její celkové hmotnosti, podstatně ovlivňuje život v půdě a její vlastnosti (Vaněk et al., 2006). Je významnou zásobárnou uhlíku a prakticky jediný zdroj dusíku, síry, fosforu a dalších živin v půdě (Vráblíková & Slavík, 1994).

Půdní organická hmota zlepšuje kvalitu půdy mnoha způsoby. Pozitivně působí na fyzikální, chemické i biologické vlastnosti půdy (Brady & Weil, 2008; Němeček et al., 1990) – například zvyšuje pórovitost a tím pádem i infiltrační schopnost půdy (Carter, 2002; Sánka & Materna, 2004), ovlivňuje vznik půdních agregátů (Tang et al., 2011), podílí se na pufrační kapacitě půdy, je základním zdrojem energie pro půdní mikrobiotu a zajišťuje většinu potravy pro heterotrofní společenstva. Půdní organická hmota hraje také velmi významnou roli v koloběhu uhlíku (Brady & Weil, 2008).



Obr. 3. Koloběh uhlíku v půdě, upraveno dle (Bot & Benites, 2005)

## 2.3. Význam půdní organické hmoty a půdního organického uhlíku v obnově ekosystémů na výsypkách

### 2.3.1. Tvorba půdy na výsypkách

Substráty nacházející se na výsypkách postrádají na rozdíl od běžných půd důležitou recentní organickou hmotu. Často mívají extrémní zrnitostní složení - jsou buď písčité, nebo jsou naopak kamenité či jílovité (Frouz, 2011a; Frouz, 2011b). Výsypkové substráty mnohdy vykazují extrémní pH, což při nízkých hodnotách může vést až ke vzniku fytotoxických zemin. (Frouz, 2011a; Štýs, 1990). Toxicita se ale může projevit i u zemin alkalických, které mají vysokou vodivost a koncentraci iontů (Frouz et al., 2005). Celkově pak toxicita způsobuje problémy při rekultivacích (Bradshaw, 1997). Dále výsypkové substráty postrádají půdní strukturu, mívají nízkou dostupnost živin, vysokou salinitu a mohou obsahovat velké množství těžkých kovů (Frouz, 2011b).

Zatímco na rekultivovaných plochách výsypek byly procesy formování půdy široce studovány, studií o spontánním vzniku půd v lokalitách po ukončené těžbě zatím moc neexistuje (Frouz & Nováková, 2005). Tento proces je ovlivňován celou řadou půdotvorných faktorů. Mezi hlavní faktory patří nejenom výsypkový substrát, reliéf, sukcesivní vegetace, klima a vodní režim (Štýs, 1981), ale také činnost mikroorganismů, lidská činnost a především čas (Rohošková et al., 2006).

Důležitý půdotvorný proces, který se uplatňuje při spontánním vzniku půd na výsypkách, je akumulace půdní organické hmoty (Bradshaw, 1997; Jochimsen, 1996; Štýs, 1981). Jejím hlavním producentem jsou rostliny, které přispívají k obohacování půdy opadem asimilačních orgánů i kořenovou soustavou. Reducenti, jako jsou například bakterie a houby, získávají energii rozkladem mrtvé organické hmoty, tu svými metabolickými pochody přeměňují natolik, že se jejich činnost dá nazvat humusotvornou (Štýs, 1981). Rozvoj příhodných půdních podmínek a akumulace půdní organické hmoty ve výsypkových substrátech je tedy závislá na rozvoji vegetace, přísunu organické hmoty do půdy a na rychlosti jejího rozkladu (Frouz, 2011a; Kabrna, 2011). Celkově je tedy rychlost vzniku půd ovlivněna kvalitou výsypkového substrátu, množstvím mrtvé organické hmoty hromadící se

na povrchu a aktivitou půdních organismů (Frouz et al., 2007). Dá se předpokládat, že pokud úspěšně proběhne obnova půdy, obnoví se v budoucnu i funkční ekosystémy (Frouz, 2011a; Kabrna, 2011).

Narušené půdy mají obecně schopnost ukládat uhlík vyprodukovaný rostlinami a ukládat ho. Tento proces je znám jako sekvestrace a je to jedna z možností jak v budoucnu snížit akumulaci oxidu uhličitého v atmosféře (Akala & Lal, 2001; Jacinthe et al., 2003).

### 2.3.2. Akumulace organické hmoty na výsypkách

Obecně je akumulace organické hmoty v půdě dána hromaděním humusotvorného materiálu (identifikovatelné zbytky rostlin, živočichů a mikroorganismů), meziprodukty rozkladu a syntézy (např. bílkoviny, sacharidy, peptidy, aminokyseliny, třísloviny, vosky, organické kyseliny) a vlastního humusu (organická hmota, která prošla humifikačními procesy) v půdě (Ledvina & Horáček, 1997; Němeček et al., 1990). Dynamika těchto tří složek je dána procesy mineralizace a humifikace (Němeček et al., 1990).

Humifikace je složitý biochemický proces, při němž se humusotvorný materiál přeměňuje na vlastní humus. Ten se neobejde bez činnosti půdních organismů a zahrnuje rozkladné i syntetické procesy, při kterých vznikají meziprodukty rozkladu a syntézy. Ty mohou dále sloužit procesu humifikace, nebo mohou podlehnout úplné mineralizaci (Němeček et al., 1990).

Při mineralizaci dochází za uvolnění energie (Ledvina & Horáček, 1997) k úplnému rozkladu organické hmoty až na základní anorganické sloučeniny jako je voda,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{SO}_2$ ,  $\text{NH}_3$  (Vráblíková & Slavík, 1994).

Jak jsem již napsala výše, skrývkové zeminy vzniklé po těžbě mají obecně nízký až nulový obsah recentního organického uhlíku (Bradshaw, 2000; Fettweis et al., 2005), ale mohou obsahovat určité množství uhlíku fosilního (Piha et al., 1995). Akumulace organické

hmoty na výsypkách je do značné míry ovlivněna mnoha faktory. Jedná se například o vegetaci, podnebí, odtokové poměry nebo půdní strukturu (Carter, 2002), na výsypkách je však ovlivněna i způsobem rekultivace (Bradshaw, 2000).

Obecně se uhlík hromadí více ve svrchních částech půdy a s hloubkou rychlost akumulace klesá, což je způsobeno závislostí na přísunu opadu. Tento jev je zřetelnější u opadavých lesů a travnatých porostů (Shrestha & Lal, 2010). Rychlost akumulace organické hmoty na výsypkách je závislá především na věku výsypky. Zpočátku je rychlost akumulace velmi pomalá. Je to dáno v první řadě také závislostí na přísunu opadu, kterého je na mladých výsypkách díky nerozvinuté vegetaci málo (Chatterjee et al., 2009). Jak se vegetace rozvíjí, dochází k nárůstu rychlosti akumulace. Přičemž u lesních rekultivací dochází k nejvyšší akumulaci přibližně u 14 let starých výsypek a u pastvin je to 6 let od rekultivace (Shrestha et al., 2009). Vindušková a Frouz (2013) ve své práci zjistili, že listnaté lesy mají maximum akumulace po 5-10 letech od rekultivace, zatímco u jehličnatých lesů je nejvyšší přísun uhlíku do půdy po 30-40 letech. Akumulační rychlost se poté snižuje. To může být dáno menším přísunem opadu na starších plochách, které mají větší korunový zápoj (Šourková et al., 2005).

Nebylo statisticky prokázáno, že celková míra akumulace souvisí s typem vegetace. Bylo však zjištěno, že akumulaci ovlivňuje teplota. Na plochách zarostlých jehličnany se akumulace se zvyšující teplotou snižuje, zatímco na travnatých plochách se akumulace se zvyšující teplotou zvyšuje. To znamená, že by se při rekultivacích měla používat vegetace přirozená pro dané biomy – v teplejších polohách by měly být vysazovány trávy, na chladnějších jehličnaté stromy a v přechodných polohách stromy listnaté (Vindušková & Frouz, 2013).

Při rekultivacích se obsah organické hmoty dá zpočátku zvýšit navezením ornice, která určité množství organické hmoty již obsahuje, je však mnohem nižší než před skrývkou (Ingram et al., 2005), přičemž průměrně ornice obsahuje 2-5% organické hmoty (Vaněk et al., 2006). Při dlouhodobém skladování orničních horizontů totiž dochází v hlubších vrstvách k vytvoření anaerobních podmínek, které způsobují utlumení mikrobiální činnosti (Frouz, 2011b). Anaerobní podmínky a velký tlak v hlubších vrstvách mají také za následek rozpad půdních agregátů (Wick et al., 2009). Po rozrušení deponie dojde k rychlé oxidaci organické

hmoty z hlubších vrstev, které byly vystaveny anaerobióze a dochází tak ke ztrátám uhlíku z půdy (Frouz, 2011b; Wick et al., 2009).

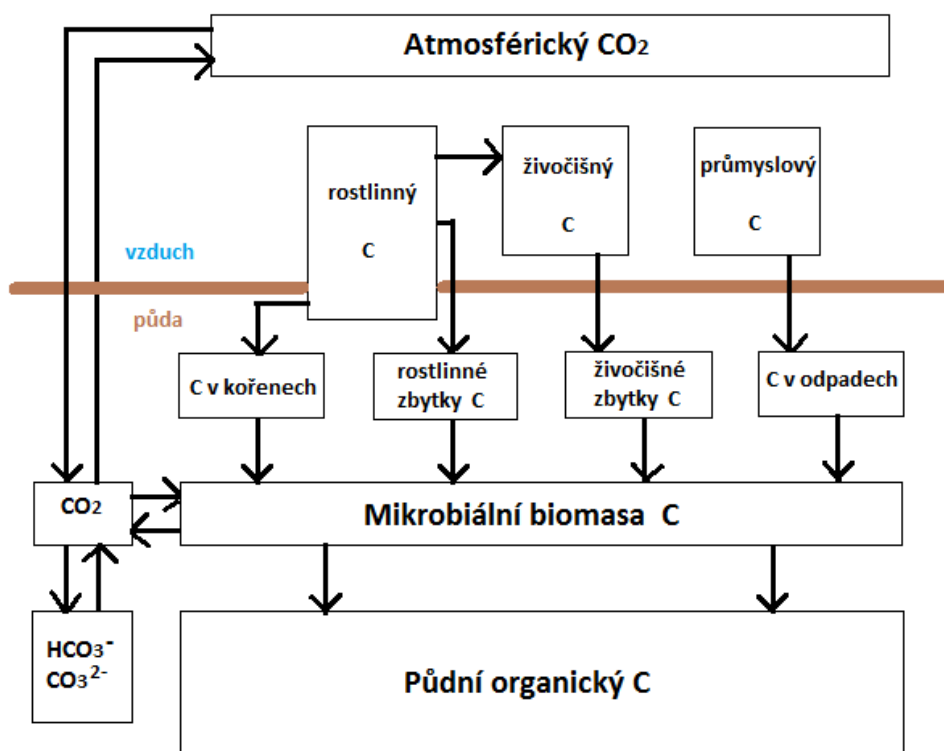
Také při navážení ornice na výsypku se uhlík ztrácí mnoha způsoby. Zezačátku se ztrácí obdobně jako u půd obdělávaných orbou – to znamená, že se díky přeměně půdních agregátů organická hmota v nich uložená ztratí rozkladem a následnou respirací mikroorganismů. Dále pak ke ztrátě uhlíku přispívá eroze půdy způsobená odstraňováním, ukládáním a znovurozážením ornice (Anderson et al., 2008; Ganjegunte et al., 2009). Pokles se také projeví při promíchání ornice s hlubší vrstvou půdy (Anderson et al., 2008). Při skladování a manipulaci s půdou se tak může ztratit 32 – 85% koncentrace půdního organického uhlíku (Abdul- Kareem & McRae 1984).

## 2.4. Metody stanovení akumulace půdního organického uhlíku v půdě

Pro charakterizaci jednotlivých složek organického uhlíku v půdě se používá výraz zásobníky půdního organického uhlíku. Pro různé výzkumy však může mít mnoho různých významů. Pro některé to může znamenat fyzickou část rostlinných zbytků v různých fázích rozkladu, nebo půdní organický uhlík spojený s frakcemi různých velikostí půdních částic, pro jiné to zas mohou být chemické frakce obsahující specifické chemické struktury nebo funkční skupiny. Všechny různé formy uhlíku jsou v přírodním prostředí spojeny procesem koloběhu uhlíku (Lal et al., 2001).

Zásobníky uhlíku v půdě by se daly rozdělit na dvě části – labilní a stabilní. Jako labilní zásobárna uhlíku se například označuje uhlík, který je uložený v živých mikroorganismech. Tato zásobárna vykazuje vysokou míru fluktuace, a proto nemůže výrazně přispět k sekvestraci uhlíku. Zatímco čím více jsou zásobníky stabilní - humifikované a mikrobiálně špatně rozložitelné sloučeniny, které se v půdě hromadí jako půdní organická hmota – tím déle se uhlík v nich vázaný udrží v půdě. Může se tak jednat až o tisíciletí (Silveira et al., 2008)

Další dělení půdních zásobníků uhlíku může být podle průměrné doby zdržení uhlíku v zásobárně. Rozdělují se na aktivní, pomalé a pasivní s průměrnou dobou zdržení 1,5; 25 a přibližně 1000 let (Parton et al., 1987).



Obr. 4. Zásobníky (pools) uhlíku v půdě. Upraveno dle (Lal et al., 2001).

Způsobů jak změřit zásoby uhlíku v půdě existuje celá řada. Pro představu zde popíši principy některých z nich.

### Stanovení ztráty žiháním

Metoda ztráty žiháním (LOI – loss on ignition) je založená na žihání vysušených vzorků v peci při teplotě cca 550 °C. Při této teplotě je oxidace organické hmoty dostatečná, ale

nedochází ještě k rozkladu karbonátů. Obsah organické hmoty se vypočítá z hmotností vzorků před a po žíhání (Zbíral et al., 2011).

$$\text{LOI} = 100 * (m_1 - m_2)/m_1 [\%]$$

$m_1$  = hmotnost vzorku před žíháním [g]

$m_2$  = hmotnost vzorku po žíhání [g]

#### **Stanovení uhlíku mikrobiální biomasy fumigačně extrakční metodou**

Během fumigace půdního vzorku parami chloroformu se intaktní mikrobiální buňky lyzují a mikrobiální organická hmota se tak uvolní do půdy. Neživá organická hmota není při fumigaci podstatně ovlivněna. Půdní vzorky se fumigují chloroformem alespoň 24 hodin. Obsahy organického uhlíku se stanoví v extraktech ( $\text{K}_2\text{SO}_4$ ,  $c = 0,5 \text{ mol/l}$ ) fumigovaných a nefumigovaných vzorků. Z rozdílů se pak vypočtou hodnoty obsahu půdního mikrobiálního uhlíku (MBC) (Zbíral et al., 2011).

$$\text{MBC} = (\text{CF} - \text{CNF})/K_{\text{ec}} [\mu\text{g/g suché půdy}]$$

CF = oxidovatelný uhlík extrahovaný z fumigovaných vzorků po odečtení blanku

CNF = oxidovatelný uhlík extrahovaný z nefumigovaných vzorků po odečtení blanku

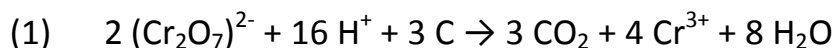
$K_{\text{ec}} = 0,38$  přepočítávací faktor

### Stanovení celkového obsahu uhlíku (TC) elementární analýzou

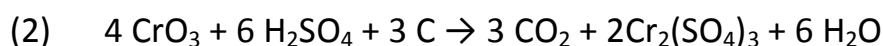
Princip této metody je založen na spalování vzorků v proudu kyslíku při vysoké teplotě, která záleží na typu přístroje a obvykle se pohybuje mezi 950 a 1350 °C. Dojde tak při tom ke vzniku směsi plynů, ze kterých se uhlík, dusík a síra katalyticky převedou na formy CO<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> a SO<sub>2</sub>. Ty se poté následně detekují vhodným způsobem. Jako detekční jednotky se používají zejména teplotně-vodivostní detektor (TCD), infračervený nedisperzní detektor (IRD) či chemiluminiscenční detektor (CLD) aj. (Zbíral et al., 2011).

### Stanovení oxidovatelného uhlíku (C<sub>ox</sub>) titrací po oxidaci chromsírovou směsí

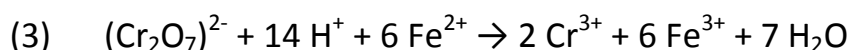
Tato metoda je založená na oxidaci uhlíku, který je vázán v zemině, kyselinou chromsírovou v prostředí nadbytku kyseliny sírové za definovaných podmínek. Titrací roztokem Mohrovy soli se stanoví nespotřebovaná kyselina chromová. Děj, který nastává při oxidaci, popisují následující rovnice (1), (2) (Zbíral et al., 2011).



nebo



Rovnice popisující děj při titraci je tato (3).



Výpočet obsahu oxidovatelného uhlíku se provede podle následujícího vztahu.

$$\text{C}_{\text{ox}} = (a - b) * f * 0,03 / m [\%]$$



a = spotřeba roztoku Mohrovy soli na titraci slepého vzorku [ml]

b = spotřeba roztoku Mohrovy soli při vlastním stanovení [ml]

f = faktor roztoku Mohrovy soli

0,03 = přepočítací faktor za předpokladu, že 1 ml roztoku Mohrovy soli odpovídá 0,3 mg  $C_{ox}$

m = hmotnost navážky vzorku [g]

Na podobném principu funguje několik dalších metod. Jedná se například o metodu Walkley-Black, která se používá v anglosaských zemích. Rozdíl je v tom, že se při této metodě vzorek s chromsírovou směsí nezahřívá, oxidace není proto kompletní a účinnost tak průměrně dosahuje jen 76%. Výsledek je pak tedy nutné vynásobit korekčním koeficientem, který se běžně udává jako 1,33 (Schumacher, 2002).

### 3. Materiál a metody

#### 3.1. Popis lokality

Sokolovská pánev se nachází v severozápadní části České republiky a je součástí Českého masivu. Je dlouhá přibližně 36 km a 9 km široká a zaujímá plochu okolo 312 km<sup>2</sup> (Frouz, 2014). Nadmořská výška se pohybuje okolo 500 – 700 m n. m., průměrné roční srážky jsou 650 mm a průměrná roční teplota je 6,8 °C (Štýs, 1981). Hlavním substrátem jsou na Velké podkrušnohorské výsypce miocénní jíly cyprisové formace (Rojík, 2004; Řehounek et al., 2010), které vznikly sedimentací v terciéru, a jejich mocnost dosahuje nejčastěji 120 m. Název je odvozen od značného výskytu vodního korýše *Cypris augusta* (Frouz et al., 2007; Řehounek et al., 2010). Substrát se na výsypku nasypává v podobě jílových hrud stmelých karbonátem. Ty se postupem času rozpadají a zvětrávají až na amorfni jíl (Frouz et al., 2001). Tento substrát obsahuje poměrně velké množství fosforu (okolo 1200 mg/kg), nicméně kvůli vysokému pH není pro rostliny přístupný (Frouz et al., 2008). Poprvé se na Sokolovsku začaly rekultivace dělat už roku 1910, ve velkém měřítku se však začaly provádět až od roku 1953 (Frouz, 2014).



Obr. 5. Plocha S22 s dominantním porostem třtiny křovištní (*Calamagrostis epigejos*)

### 3.2. Odběr vzorků

Na Velké podkrušnohorské výsypce bylo vybráno 12 rekultivovaných ploch a ploch zarostlých spontánní sukcesí velkých přibližně 5-10 ha, které byly uspořádány do dvou chronosekvencí. V první chronosekvenci jsou plochy rekultivované navezením 30 cm ornice a zatravněním jetelotravní směsí, stáří ploch je 5, 10, 12, 20, 30, 50 a 52 let. Ve druhé chronosekvenci jsou plochy nerektivované, zarostlé spontánní sukcesí s převažující třtinou křovištní (*Calamagrostis epigejos*), staré 10, 15, 22, 25 a 51 let.



Obr. 6. Mapa Velké podkrušnohorské výsypky s vyznačenými pokusnými plochami, červeně jsou označené plochy rekultivované, žlutě plochy zarostlé spontánní sukcesí

Tab. 3. Přehled údajů o jednotlivých plochách

název plochy	stáří při odběru	obnova	rok vzniku	rok odběru
R5	5 let	rekultivace	2007	2012
R10	10 let	rekultivace	2002	2012
R12	12 let	rekultivace	2002	2014
R20	20 let	rekultivace	1992	2012
R30	30 let	rekultivace	1984	2014
R50	50 let	rekultivace	1962	2012
R52	52 let	rekultivace	1962	2014
S10	10 let	sukcese	2002	2012
S15	15 let	sukcese	1999	2014
S22	22 let	sukcese	1990	2012
S25	25 let	sukcese	1987	2012
S51	51 let	sukcese	1961	2012

Odběr byl prováděn půdní sondou o ploše 10 cm<sup>2</sup>. Kvůli heterogenitě vzniklé nasypáním materiálu byly náhodně vybrány tři body a z jejich okolí pak půdní sondou byly odebrány tři vzorky do hloubky 18 cm. Každý odběr pak byl rozdělen na tři vrstvy – 0-6 cm, 7-12 cm a 13-18 cm a z jednotlivých vrstev udělán směsný vzorek.



Obr. 7. Naznačení odběru vzorků na ploše R20 - oranžový kroužek značí odběr, zelený pak směsný vzorek z daných odběrů.

### 3.3. Laboratorní stanovení

#### 3.3.1. Objemová hmotnost půdy

Ze zvážených odebraných půdních vzorků o známém objemu jsem si navážila 25 g, které jsem dala sušit při 105 °C na 5 hodin. Vzorek jsem po vychladnutí zvážila a hmotnost si poznamenala.

Objemovou hmotnost jsem vypočetla podle následujícího vzorce:

$$m_{\text{obj}} = (m_{\text{čer}}/V_{\text{čer}}) * (m_{\text{suš}}/m_{\text{nesuš}}) \text{ [g/cm}^3\text{]}$$

$m_{\text{obj}}$  = objemová hmotnost půdy [g/cm<sup>3</sup>]

$m_{\text{čer}}$  = hmotnost čerstvě odebraného vzorku [g]

$V_{\text{čer}}$  = objem čerstvě odebraného vzorku [cm<sup>3</sup>]

$m_{\text{suš}}$  = hmotnost usušené půdy [g]

$m_{\text{nesuš}}$  = hmotnost půdy před usušením [g]

#### 3.3.2. Stanovení obsahu C a N

Půdu, kterou jsem měla usušenou z měření objemové hmotnosti, jsem přesála přes 2mm síto a v třecí misce jsem ji rozdrtila na analytickou jemnost. Obsahy uhlíku a dusíku byly změřeny v Laboratoři environmentální chemie na CHN analyzátoru EA 1108 Carlo Erba Instruments, vzorky byly baleny v cínových kapslích a byly zváženy na mikrováhách Mettler Toledo s přesností na 0,001 mg.

### 3.3.3. Stanovení obsahu P

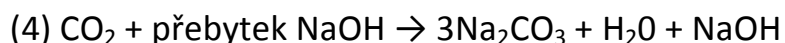
Vzorek byl zmineralizován kyselinou dusičnou a kyselinou chloristou. Mineralizací a hydrolýzou byly převedeny všechny formy fosforu na rozpuštěné orthofosforečnany. Ty tvoří v kyselém prostředí s molybdenanem amonným a vinanem antimonodraselným komplex o stechiometrickém složení  $\text{PSb}_2\text{Mo}_{10}\text{O}_{40}$ . Tento komplex byl zredukován kyselinou askorbovou za vzniku fosfoantimolybdenanové modři. Její koncentrace byla stanovena absorpční spektrofotometrií. Intenzita modrého zabarvení byla stanovena na spektrofotometru při vlnové délce 889 nm po 10 ti minutách.

### 3.3.4. Měření pH

Do 100ml sérovek jsem navážila 10 g půdy, ke kterým jsem přidala 50 ml deionizované vody. Poté jsem vzorky nechala přibližně jednu hodinu třepat v třepačce. Po hodině jsem vzorky přefiltrovala přes filtrační papír do plastových kelímků. Hodnotu pH jsem měřila pH metrem s kombinovanou elektrodou, údaj jsem odečetla po minutě.

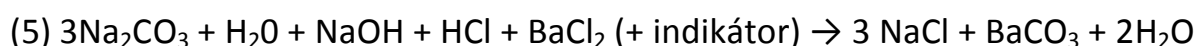
### 3.3.5. Stanovení bazální respirace půdy titrační metodou

Do 100ml sérovek s těsněním jsem navážila 10 g půdy ve třech opakováních. Následně jsem do nich vložila plastový kalíšek se 4 ml 0,5 M NaOH a zároveň založila i tři slepé vzorky – tzv. BLANK. Sklenice jsem řádně uzavřela a nechala v laboratorních podmínkách týden inkubovat.  $\text{CO}_2$ , který je vyprodukován půdními mikroorganismy, se absorbuje v roztoku NaOH podle následující rovnice (4).



Po týdnu jsem si nejprve zjistila faktor HCl. Do kádinky jsem si navážila přesně 0,200 g tetraboritanu sodného, který jsem zalila 20ml destilované vody. Po rozpuštění jsem do kádinky nakapala několik kapek methylované a směs titrovala HCl až do změny barvy ze žluté na oranžovou. Průměrnou spotřebu HCl v ml jsem použila při výpočtu.

Poté jsem přešla k titraci samotných vzorků. Ze sklenic jsem vyndala kalíšek s NaOH, který jsem vylila do kádinky a ještě ho řádně propláchla destilovanou vodou, kterou jsem tam také vylila, abych dostala všechny hydroxid sodný z kalíšku. Následně jsem do kádinky přilila 2 ml BaCl<sub>2</sub> a nakapala několik kapek indikátoru – fenolftaleinu. Směs jsem titrovala HCl až do bodu ekvivalence, kdy se vzorek odbarvil (5). Zaznamenala jsem spotřebu kyseliny chlorovodíkové a čas titrace.



Výpočet jsem prováděla podle následujícího vzorce:

$$R = ((V_b - V_s) \cdot c_{\text{HCl}} \cdot 6005) / (\text{navážka} \cdot \text{sušina} \cdot \text{doba inkubace}) [\mu\text{g CO}_2/\text{g půdy} \cdot \text{hod}]$$

$V_b$  = spotřeba HCl na titraci BLANKu [ml]

$V_s$  = spotřeba HCl na titraci vzorku [ml]

$c_{\text{HCl}}$  = přesná koncentrace roztoku HCl [mol/l] =  $10,489/V_{\text{fHCl}} \cdot 0,1$

$V_{\text{fHCl}}$  = spotřeba HCl na titraci Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>·10 H<sub>2</sub>O (tetraboritan sodný) [ml]

6005 = přepočtový koeficient

### 3.3.6. Stanovení uhlíku mikrobiální biomasy fumigačně extrakční metodou

Tato metoda je založena na rozkladu buněk parami chloroformu. Jejich účinkem se buňky mikroorganismů lýžují a jejich obsah se uvolní do okolního prostředí. Obsah uhlíku mikrobiální biomasy se poté stanoví jako rozdíl obsahu uhlíku nefumigovaných a fumigovaných vzorků.

Do 100ml sérovek jsem po šesti opakováních navážila 5 g čerstvé půdy. Do jedné poloviny z nich jsem nalila 40 ml  $K_2SO_4$  a nechala třepat 45 minut v třepačce. Po vytřepání jsem vzorky zfiltrovala a zároveň jsem zfiltrovala i čistý  $K_2SO_4$  jako BLANK. Filtrát jsem uložila v malých plastových lahvičkách do mrazáku, kde jsem ho nechala až do analytické koncovky.

Druhou polovinu jsem vložila do exsikátoru, který jsem vyložila namokřeným filtračním papírem. Navrch jsem položila Petriho misku se skleněnými kuličkami a 50ml chloroformu. Pak jsem exsikátor zavřela a odsávala vzduch, dokud z misky s chloroformem nezačaly unikat bublinky a exsikátor se tak naplnil parami chloroformu. Po odsátí vzduchu jsem nechala páry chloroformu na vzorky působit 3 dny. Poté jsem opět nechala vzorky 45 minut třepat v třepačce s  $K_2SO_4$ , následně je přefiltrovala a uložila do mrazáku.

Při analytické koncovce jsem si nejprve změřila faktor Mohrovy soli, kterou jsem titrovala vzorky. Do 3 kádinek jsem si odměřila 1 ml dvojchromanu draselného a 2,5 ml kyseliny sírové a nakonec doplnila 20 ml destilované vody. Titrovala jsem s ferroin indikátorem Mohrovo solí. Průměrnou hodnotu spotřeby jsem použila při výpočtu.

Následně jsem do Erlenmeyerových baněk odměřila 8 ml rozmraženého filtrátu, přidala 15 ml chromsírové směsi a promíchala. Poté jsem je nechala 45 minut sušit v sušičce. K vystydnutým vzorkům jsem přidala ferroin indikátor a titrovala je Mohrovo solí z oranžové přes zelenou znovu do oranžového zbarvení. Spotřebu soli v ml jsem si zaznamenala.

Obsah mikrobiálního C jsem počítala podle následujících vzorců:



Uhlík v extraktu vzorků:

$$C_{(ne)fum} = ((B - V_{(ne)fum}) * (8/F) * 0,15 * V_{extr} * 1000) / (V_{min} * m) \quad [\mu\text{g C/g suché půdy}]$$

B = spotřeba Mohrovy soli na titraci BLANKu [ml]

$V_{(ne)fum}$  = spotřeba Mohrovy soli na fumigované nebo nefumigované vzorky [ml]

F = spotřeba Mohrovy soli na stanovení faktoru [ml]

0,15 = přepočet na mg C (1 ml 0,05 M Mohrovy soli = 0,15 mg C)

$V_{extr}$  = objem extrakčního činidla použitého pro extrakci uhlíku [ml]

1000 = přepočet z mg na  $\mu\text{g C}$

$V_{min}$  = objem filtrátu [ml]

m = suchá hmotnost vzorku použitého pro extrakci [g]

Uhlík mikrobiální biomasy:

$$C_{mic} = (C_{fum} - C_{nefum}) / k_{EC} \quad [\mu\text{g C/g suché půdy}]$$

$k_{EC}$  = konverzní faktor = 0,38

### 3.3.7. Obsah ergosterolu

Ergosterol je látka obsažená v buněčných membránách hub, která je produkována pouze živými organismy a po uhynutí se velmi rychle rozkládá. Tato metoda je založená na extrakci ergosterolu ze vzorku, který je následně analyzován na kapalinovém chromatografu se spektrofotometrickou detekcí.

Z každého čerstvě odebraného vzorku jsem si navážila přibližně 5 g, které jsem nechala zmrazit. Zmražené vzorky jsem následně nechala vysušit v plastových lahvičkách utěsněných vatou v lyofilizátoru. Po usušení jsem je zhomogenizovala rozdrčením v třecí misce na analytickou jemnost.

Na extrakci jsem do 8ml vialek navážila po 0,5 g vzorků, ke kterým jsem přidala 3 ml KOH v metanolu a 1 ml cyklohexanu. Vialky jsem uzavřela víčkem s teflonovým septem. Směs jsem pak na 90 minut vložila do vodní lázně o teplotě 70°C a prvních 15 minut jsem ji ultrazvukovala. Po vychladnutí jsem do vzorků přidala 1 ml destilované vody a 2 ml cyklohexanu. Následně jsem je nechala 30 vteřin míchat ve vortexu a pak jsem je dala na 5 minut do centrifugy při 3500 rpm, abych od sebe oddělila frakce. Pasteurovou pipetou jsem pak odebrala supernatant – svrchní cyklohexanovou frakci, kterou jsem nalila do nových vialek. Poté jsem ještě dvakrát provedla reextrakci, abych dostala všechny ergosterol ze vzorku. Získané supernatany jsem spojila s prvními. Když jsem dokončila extrakci, nechala jsem cyklohexan z vialek vypařit pomocí proudu N<sub>2</sub>. Odparek jsem pak rozpustila v 1 ml metanolu a 30 vteřin míchala ve vortexu, následovala 15 minutová vodní lázeň o teplotě 40°C a opět promíchání ve vortexu. Celý objem z vialek jsem potom napipetovala do 1,5ml eppendorfek a nechala 3 minuty centrifugovat při 6000 rpm. Nakonec jsem do 2ml vialek napipetovala 800 µl supernatantu, zakrimpovala je a uložila do mrazáku do doby analýzy.

Před samotnou analýzou jsem si nejprve připravila kalibrační roztoky ergosterolu v metanolu, které jsou nutné pro vytvoření kalibrační přímky. Vyrobila jsem si roztoky o koncentraci 1, 2, 5, 10, 20, 50 a 100 ppm ředěním standardu o koncentraci 1000 ppm.

Měření bylo provedeno na HPLC koloně LiChroCART® 250-4 – Superspher® 100 RP – 18e (4 µm), mobilní fází byl 100% MeOH, průtok 1 ml/ min, teplota 35 °C. Retenční čas ergosterolu byl přibližně 10 minut, celkový čas metody byl 20 minut. Nástřik vzorku byl 20 µl.

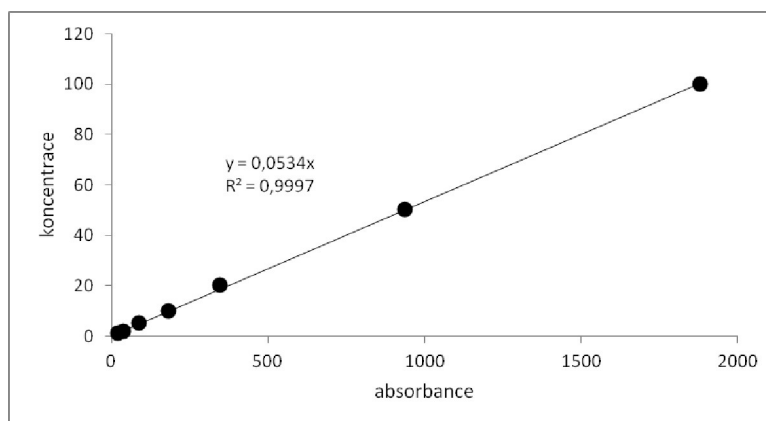
Pro výpočet obsahu ergosterolu je nutné nejprve sestavit kalibrační přímku, kterou jsem vytvořila z koncentrací a naměřených hodnot pro jednotlivé standardy. Z naměřené hodnoty absorbance u daného vzorku jsem vypočetla koncentraci ergosterolu v jednotkách ppm. Abych dostala koncentraci ergosterolu v původním vzorku, podělila jsem ji hmotností navážky. Koncentraci jsem tedy spočítala podle následujícího vzorce.

$$c = (0,0564 \cdot A) / m \text{ [}\mu\text{g/g suché půdy]}$$

c = koncentrace ergosterolu

A = absorbance vzorku

m = hmotnost navážky



Obr. 8. Kalibrační přímka pro výpočet obsahu ergosterolu

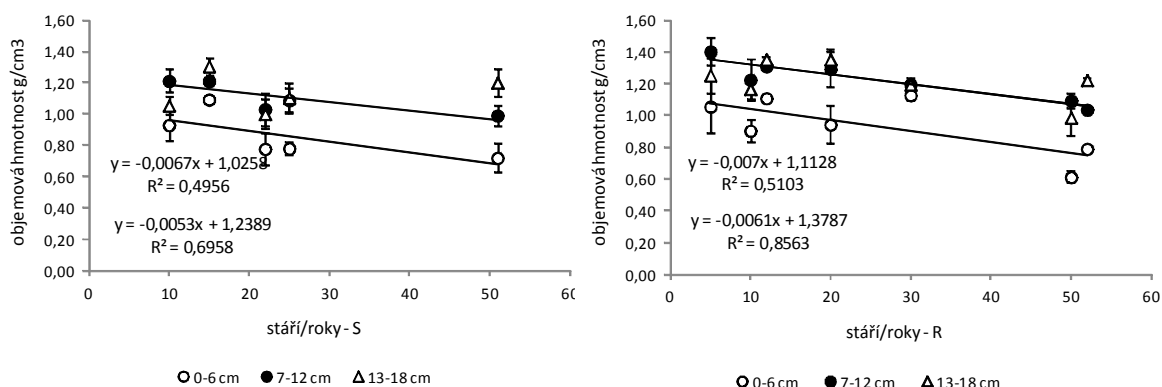
### 3.4. Statistické zpracování

Výsledky jsem statisticky zpracovala v programu Excel. Změny v jednotlivých parametrech v závislosti na stáří plochy byly sledovány pomocí lineární regrese. Časové změny sledovaných parametrů a rozdíly v těchto změnách rekultivovanými a nerektivovanými plochami jsem porovnávala s časem pomocí obecných lineárních modelů (general linear model) GLM.

## 4. Výsledky

### 4.1. Objemová hmotnost půdy

Dá se říci, že jak na sukcesních, tak na rekultivovaných plochách objemová hmotnost v prvních 12 cm s časem klesá. Signifikantně se to potvrdilo na sukcesních plochách u hloubek 0-6 cm a 7-12 cm. Na rekultivovaných plochách je signifikantní pokles taktéž u hloubek 0-6 cm a 7-12 cm. V hloubce 13-18 cm už zůstává objemová hmotnost u obou chronosekvencí přibližně stejná. Obecně se objemová hmotnost s hloubkou zvětšuje. Ze začátku jsou rekultivované půdy o něco těžší než rekultivované, po 50 ti letech vývoje je jejich objemová hmotnost přibližně stejná.

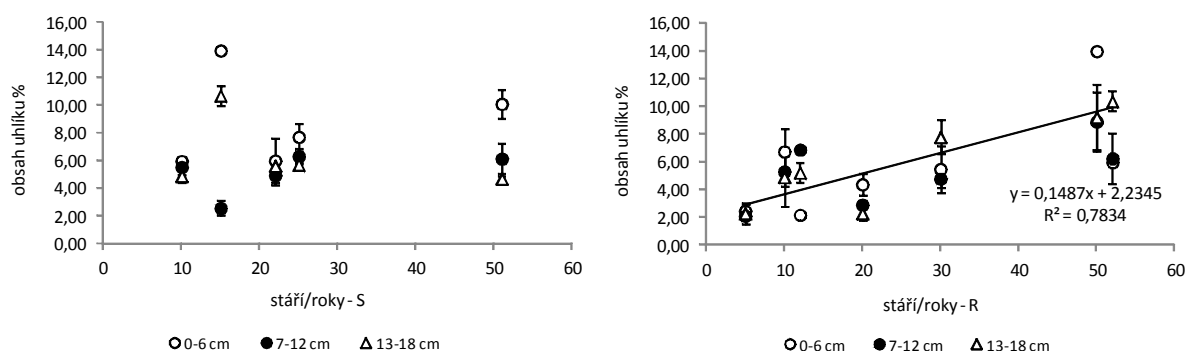


Obr. 9. Vývoj objemové hmotnosti v jednotlivých vrstvách na sukcesních (S) a rekultivovaných (R) plochách. Úsečky značí směrodatnou odchylku. Statisticky významné závislosti ( $p < 0,05$ ) jsou proloženy lineárním trendem, je uvedena jejich rovnice a  $R^2$ , není-li toto uvedeno, nebyl trend se stářím plochy statisticky významný.

### 4.2. Obsah uhlíku, celková zásoba uhlíku

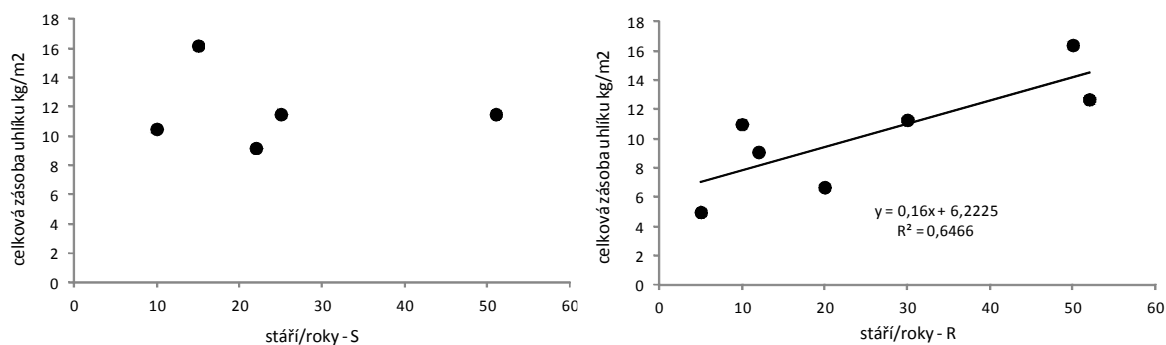
Na rekultivovaných plochách vzrůstá obsah uhlíku oproti plochám sukcesním o poznání rychleji ve všech vrstvách. Signifikantně se nám to však potvrdilo jen v hloubce 13-

18 cm, kde obsah uhlíku vzrostl za 50 let asi o 8 %. U sukcesních ploch se dá také pozorovat růst u vrstev 0-6 cm a 7-12 cm, avšak pomalejší a signifikantně neprůkazný. V nejhlubší vrstvě 13-18 cm není patrný žádný vývoj. Sukcesní plochy mají ze začátku vyšší obsah uhlíku, což je dáno vysokým obsahem uhlíku v původním substrátu.



Obr. 10. Vývoj obsahu uhlíku v jednotlivých vrstvách na sukcesních (S) a rekultivovaných (R) plochách. Úsečky značí směrodatnou odchylku. Statisticky významné závislosti ( $p < 0,05$ ) jsou proloženy lineárním trendem, je uvedena jejich rovnice a  $R^2$ , není-li toto uvedeno, nebyl trend se stářím plochy statisticky významný.

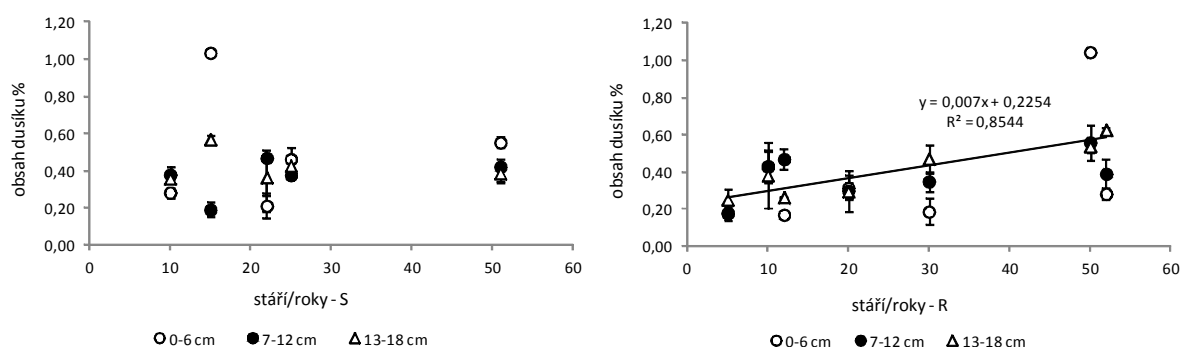
Celková zásoba uhlíku signifikantně roste s časem na rekultivovaných plochách, kde se za 50 let zvýšila přibližně o 8 kg/m<sup>2</sup> do hloubky 18 cm. To odpovídá nárůstu uhlíku o 1,6 t/ha/rok. Staré sukcesní plochy mají zásobu uhlíku téměř stejnou jako plochy relativně mladé a nedá se pozorovat žádný nárůst v obsahu půdního uhlíku. Sukcesní plochy mají od počátku vývoje podstatně vyšší zásobu uhlíku než plochy rekultivované. Ty mají po 50 ti letech vývoje zásobu uhlíku vyšší přibližně jen o 2,5 kg/m<sup>2</sup> do hloubky 18 cm než sukcesní plochy.



Obr. 11. Vývoj celkové zásoby uhlíku do hloubky 18 cm na sukcesních (S) a rekultivovaných (R) plochách. Statisticky významné závislosti ( $p < 0,05$ ) jsou proloženy lineárním trendem, je uvedena jejich rovnice a  $R^2$ , není-li toto uvedeno, nebyl trend se stářím plochy statisticky významný.

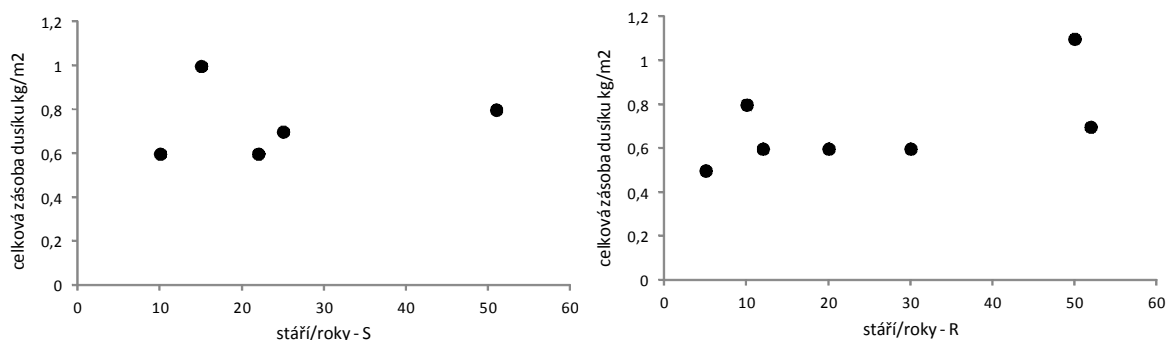
#### 4.3. Obsah dusíku, celková zásoba dusíku

Obsah dusíku se signifikantně zvyšuje na rekultivovaných plochách v hloubce 13-18 cm, růst je vidět i u ostatních hloubek, ale není průkazný. Na sukcesních plochách není pozorován žádný zřetelný vývoj. U obou chronosekvencí se však obsahy dusíku po celou dobu vývoje pohybují přibližně ve stejném rozmezí 0,2 – 0,6 %.



Obr. 12. Vývoj obsahu dusíku v jednotlivých vrstvách na sukcesních (S) a rekultivovaných (R) plochách. Úsečky značí směrodatnou odchylku. Statisticky významné závislosti ( $p < 0,05$ ) jsou proloženy lineárním trendem, je uvedena jejich rovnice a  $R^2$ , není-li toto uvedeno, nebyl trend se stářím plochy statisticky významný.

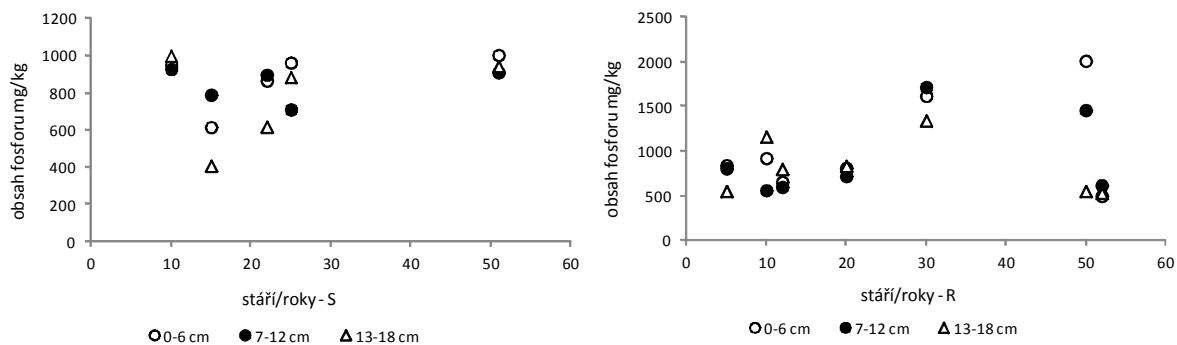
Růst celkové zásoby dusíku se statisticky nepotvrdil ani u jedné chronosekvence, i když se dá říci, že tam nárůst probíhat bude. Zásoba se u sukcesních ploch za 40 let zvýšila přibližně o  $0,1 \text{ kg/m}^2$  a u rekultivovaných se za 50 let zvýšila o  $0,2 \text{ kg/m}^2$ .



Obr. 13. Vývoj celkové zásoby dusíku do hloubky 18 cm na sukcesních (S) a rekultivovaných (R) plochách, nejsou zde uvedeny spojnice trendů, protože závislost na stáří plochy nebyla statisticky významná.

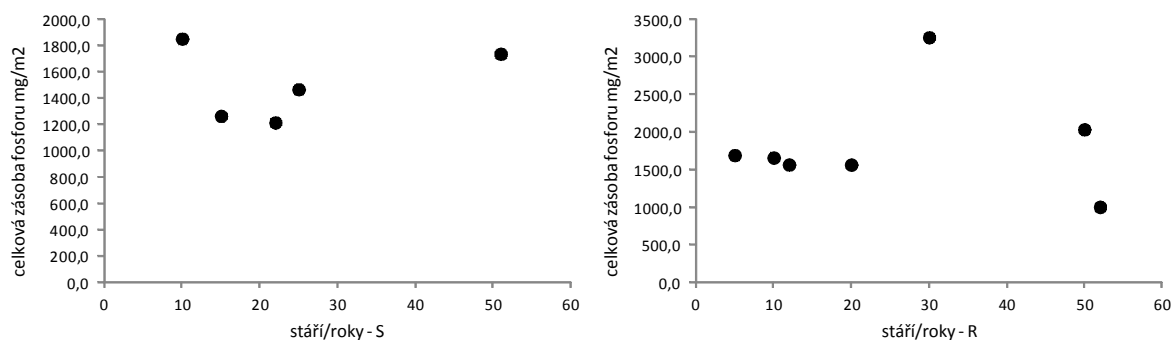
#### 4.4. Obsah fosforu, celková zásoba fosforu

Sukcesní plochy nevykazují v obsahu fosforu žádný trend. Zatímco u rekultivovaných obsah fosforu roste v prvních dvou vrstvách a v hloubce 13-18 cm se dá dokonce pozorovat určitý pokles.



Obr. 14. Vývoj obsahu fosforu v jednotlivých vrstvách na sukcesních (S) a rekultivovaných (R) plochách, nejsou zde uvedeny spojnice trendů, protože závislost na stáří plochy nebyla statisticky významná.

Na sukcesních plochách se celková zásoba fosforu s časem pomalu zvyšuje, zatímco u ploch rekultivovaných není pozorován žádný nárůst. Po 50 ti letech vývoje je zásoba fosforu přibližně stejná.

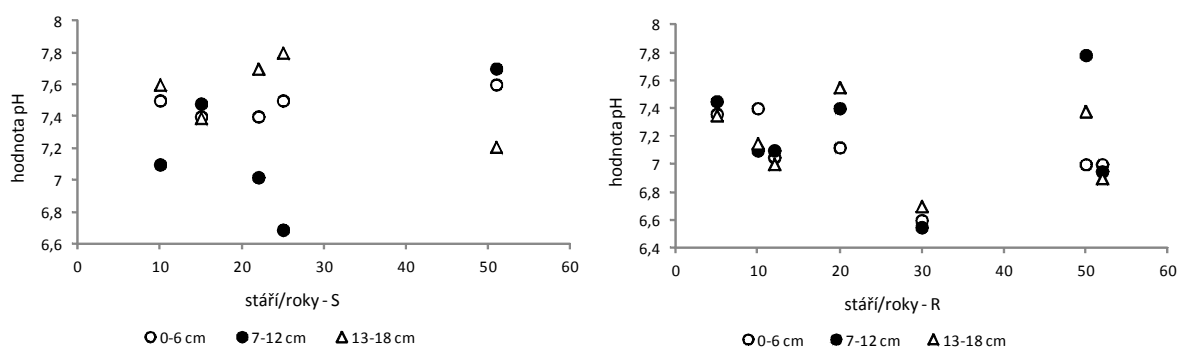


Obr. 15. Vývoj celkové zásoby fosforu do hloubky 18 cm na sukcesních (S) a rekultivovaných (R) plochách, nejsou zde uvedeny spojnice trendů, protože závislost na stáří plochy nebyla statisticky významná.



#### 4.5. Hodnota pH

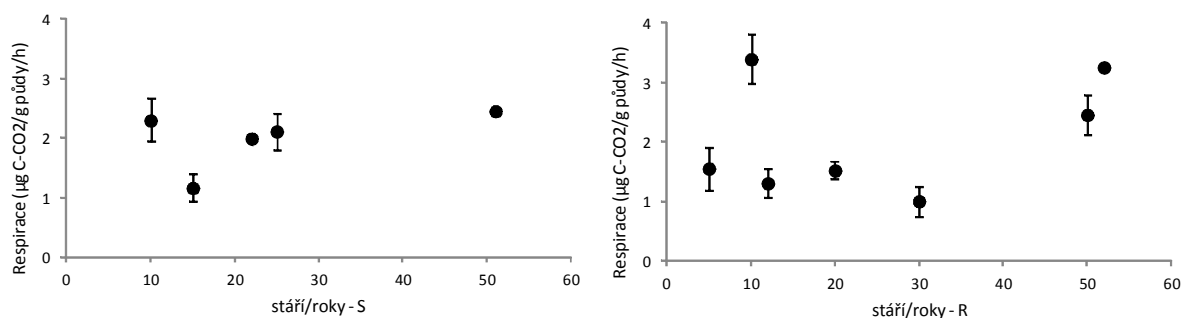
Hodnota pH zůstává na sukcesních plochách v prvních dvou vrstvách přibližně stejná a pohybuje se okolo hodnot 7,5 – 7,6. Na rekultivovaných plochách se celkově hodnoty pohybují o něco málo níže a je tam náznak poklesu pH ve všech vrstvách.



Obr. 16. Vývoj pH v jednotlivých vrstvách na sukcesních (S) a rekultivovaných (R) plochách, nejsou zde uvedeny spojnice trendů, protože závislost na stáří plochy nebyla statisticky významná.

#### 4.6. Mikrobiální respirace půdy

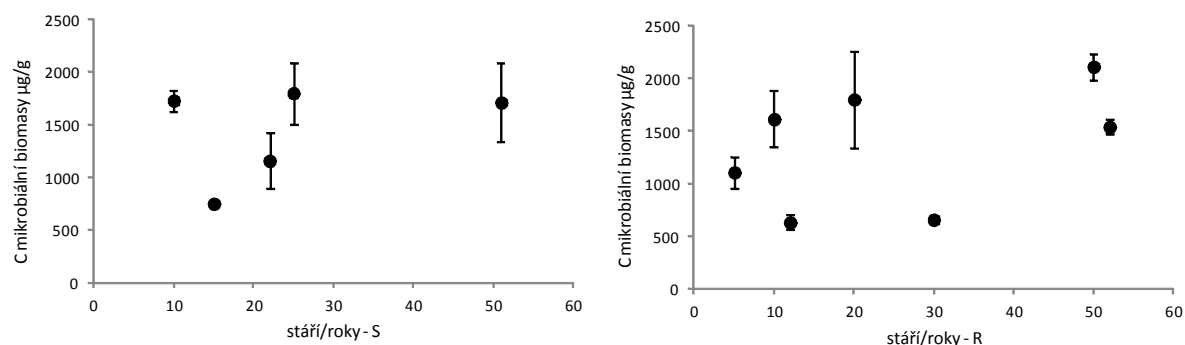
Mikrobiální respirace se na sukcesních plochách během 50 ti let nijak výrazně nezměnila. Stále se pohybuje okolo 2  $\mu\text{g C} - \text{CO}_2/\text{g půdy/h}$ . U starých rekultivovaných ploch se už ale dá pozorovat nárůst hodnot od 1,5 nad 3  $\mu\text{g C} - \text{CO}_2/\text{g půdy/h}$ .



Obr. 17. Vývoj mikrobiální respirace do hloubky 6 cm na sukcesních (S) a rekultivovaných (R) plochách. Úsečky značí směrodatnou odchylku. Nejsou zde uvedeny spojnice trendů, protože závislost na stáří plochy nebyla statisticky významná.

#### 4.7. Uhlík mikrobiální biomasy

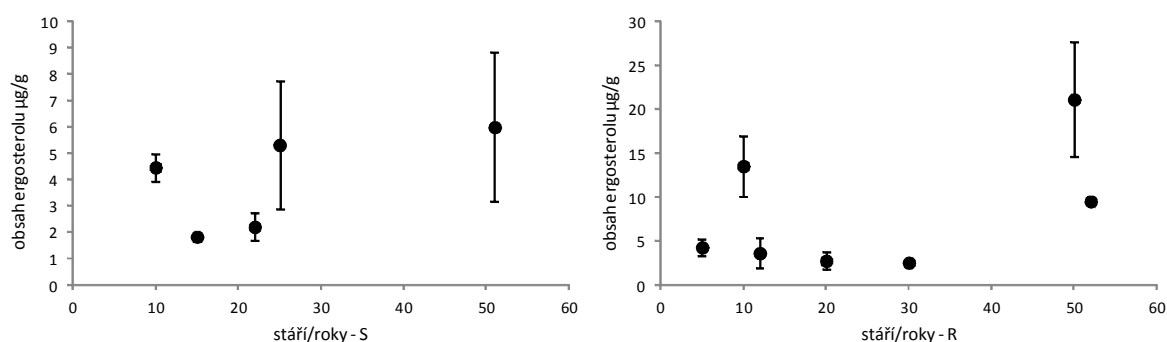
V obou chronosekvencích se uhlík mikrobiální biomasy pohybuje okolo podobných hodnot 1000 – 2000 µg/g. U sukcesních ploch se vývoj zdá být konstantní, ale u rekultivovaných ploch je náznak růstu, i když statisticky neprůkazného.



Obr. 18. Vývoj obsahu uhlíku mikrobiální biomasy do hloubky 6 cm na sukcesních (S) a rekultivovaných (R) plochách. Úsečky značí směrodatnou odchylku. Nejsou zde uvedeny spojnice trendů, protože závislost na stáří plochy nebyla statisticky významná.

#### 4.8. Obsah ergosterolu

Na rekultivovaných plochách vyšel obsah ergosterolu celkově vyšší než na plochách sukcesních. Na sukcesních plochách se zdá, že se obsah ergosterolu s věkem zvyšuje, ale vzhledem k rozptýlenosti hodnot se však o nějakém prokazatelném vývoji mluvit nedá.



Obr. 19. Vývoj obsahu ergosterolu do hloubky 6 cm na sukcesních (S) a rekultivovaných (R) plochách. Úsečky značí směrodatnou odchylku. Nejsou zde uvedeny spojnice trendů, protože závislost na stáří plochy nebyla statisticky významná.

Tab. 4. Přehled korelačních koeficientů měřených parametrů, tučně jsou zvýrazněné signifikantní výsledky

parametr	vrstva	sukcese	rekultivace
objemová hmotnost	0-6 cm	<b>-0,704</b>	<b>-0,716</b>
	7-12 cm	<b>-0,834</b>	<b>-0,925</b>
	13-21 cm	0,205	0,566
obsah uhlíku	0-6 cm	0,153	0,628
	7-12 cm	0,485	0,69
	13-21 cm	0,394	<b>0,885</b>
obsah dusíku	0-6 cm	0,007	0,542
	7-12 cm	0,406	0,509
	13-21 cm	-0,232	<b>0,924</b>
obsah fosforu	0-6 cm	0,489	0,385
	7-12 cm	0,139	0,413
	13-21 cm	0,324	-0,312
pH	0-6 cm	0,726	-0,548
	7-12 cm	0,485	0,030
	13-21 cm	-0,557	-0,212
celková zásoba C kg/m <sup>3</sup>	0-18 cm	0,146	<b>0,804</b>
celková zásoba N kg/m <sup>3</sup>	0-18 cm	0,139	0,601
celková zásoba P mg/m <sup>3</sup>	0-18 cm	0,230	0,001
ergosterol	0-6 cm	0,608	0,515
uhlík mikrob. biomasy	0-6 cm	0,359	0,439
respirace	0-6 cm	0,491	0,357

## 5. Diskuze

### (1) Obsah uhlíku, celková zásoba uhlíku

U travnatých porostů na sokolovských výsypkách byl pozorován statisticky významný nárůst celkové zásoby uhlíku pouze u rekultivovaných ploch a to v průměru o 1,6 t/ha/rok. Což potvrdilo hypotézu (2), že se uhlík akumuluje v půdě rychleji na rekultivovaných plochách. Toto číslo odpovídá akumulaci uhlíku na pastvinách a travnatých porostech, které ve své práci uvádí Ussiri a Lal (2005). U lesních porostů na stejném místě je pozorován nárůst celkové zásoby uhlíku jak u rekultivovaných tak u sukcesních ploch (Frouz & Kalčík, 2006). To může být dáno především menší produkcí opadu travnatých porostů na sukcesních plochách oproti produkci rekultivovaných zatravněných a sukcesních zalesněných ploch. U travinných společenstev se roční opad pohybuje v rozmezí 1 – 12 t/ha/rok, zatímco u lesních společenstev se pohybuje mezi 3 a 25 t/h/rok v závislosti na geografických oblastech (Němeček et al., 1990). Další příčinou může být aktivita půdní fauny, která je ze začátku díky navezené ornici na rekultivovaných plochách rozvinutější (Anderson et al., 2008). Díky tomu na rekultivovaných plochách dochází i rychlejšímu formování půdy a k rychlejší akumulaci uhlíku. Podstatným důvodem malé akumulace uhlíku na sukcesních plochách bude také vysoký obsah fosilního uhlíku obsažený ve výsypkovém substrátu. Ve stratigrafickém profilu cyprisového souvrství se uvádí obsah uhlíku od 2 do 18 % (Kříbek et al., 1998). Vzhledem k tomu, že jsme měřili celkový obsah uhlíku, který zahrnuje jak uhlík recentní, tak uhlík fosilní a anorganický, nárůst uhlíku recentního pak nemusí být tolik patrný. Na sukcesních plochách bylo naměřeno už na počátku vývoje okolo 10 kg/m<sup>2</sup> uhlíku do hloubky 18 cm, zatímco rekultivované plochy dosáhly této hodnoty přibližně až po 25 letech vývoje. Zde se díky tomu potvrdila hypotéza (3).

Nárůst obsahu uhlíku v jednotlivých vrstvách lze pozorovat u všech vrstev na rekultivovaných plochách, avšak statisticky se potvrdil jen u vrstvy 13-18 cm. Zde byl také pozorován největší růst obsahu uhlíku ze všech vrstev. To ovšem vyvrací hypotézu (4), že se uhlík akumuluje rychleji v povrchových horizontech. Šourková et al. (2005) ve své práci ale

zjistili nejvyšší nárůst obsahu celkového uhlíku u rekultivovaných zalesněných ploch ve svrchní vrstvě do 5 cm. Chatterjee et al. (2009) nezjistili žádný trend v nárůstu uhlíku v chronosekvenci zatravněných ploch ve vrstvách hlubších než 10 cm. Což vysvětluje to, že na travnatých plochách jsou hlavním zdrojem humusotvorného materiálu kořeny travin, které koření velmi mělce. Naše výsledky mohou být dány tím, že se v této hloubce už často vyskytoval původní substrát, který má vyšší obsah uhlíku než ornice navezená na něj a společně s akumulací organické hmoty se tak obsah uhlíku zvýšil více, než ve vrstvách z menších hloubek. U sukcesních ploch není nárůst obsahu uhlíku nijak výrazný, což může být způsobeno, jak je již napsáno výše, vysokým obsahem fosilního uhlíku ve výsypkovém substrátu i nízkým přísunem opadu, díky málo rozvinuté vegetaci.

## **(2) Objemová hmotnost půdy**

Jak u rekultivovaných tak u sukcesních ploch dochází ke snižování objemové hmotnosti do hloubky 12 cm až k hodnotě  $0,8 \text{ g/cm}^3$ . Zde se potvrdila hypotéza (3), rozdíly mezi rekultivovanými a sukcesními plochami se s časem zmenšují. V nejhlubší vrstvě u obou chronosekvencí není pozorován žádný vývoj a hodnota zůstává přibližně stejná. To může být zapříčiněno vyšší akumulací organické hmoty ve svrchních vrstvách. Jak je známo, při akumulaci organické hmoty v půdě dochází ke snižování její objemové hmotnosti. Frouz a Kalčík (2006) zkoumali deprese a elevace na Velké podkrušnohorské výsypce, které vznikly při nasypávání výsypky a byly zarostlé spontánní sukcesí. Zjistili pokles objemové hmotnosti jak v depresích, tak na elevacích, přičemž v depresích bych pokles větší. Což by odpovídalo i naměřené větší humusové vrstvě a vyššímu obsahu uhlíku.

## **(3) Obsah dusíku, celková zásoba dusíku**

Na počátku vývoje byl obsah dusíku na rekultivovaných i sukcesních plochách přibližně stejný. Růst obsahu dusíku je však patrný jen u rekultivovaných ploch, přičemž

signifikantní vývoj se potvrdil u nejhlubší vrstvy 13-18 cm, kde byl nárůst téměř o 0,4 %. Na plochách rekultivovaných zalesněním se nárůst obsahu dusíku signifikantně potvrdil do hloubky 5 cm. V hloubce od 5 do 10 cm se hodnoty už pohybovaly níže bez průkazných výsledků. Nárůst obsahu dusíku byl vysvětlen fixací dusíku symbiotickými bakteriemi žijícími u kořenů olše, která je tam vysázena (Šourková et al., 2005). U sukcesních ploch nebyl u jednotlivých vrstev vývoj prakticky znatelný. To by se dalo vysvětlit tím, že se na sukcesních plochách nevyskytují rostliny, které podporují fixaci dusíku, zatímco na rekultivovaných plochách byla vyseta jetelotravní směs. Je známo, že mnoho zástupců z čeledi bobovitých (*Fabaceae*) podporuje fixaci vzdušného dusíku díky bakteriím, které žijí v symbióze s jejich kořeny.

U celkové zásoby dusíku do hloubky 18 ti cm je kladný vývoj v čase již znatelný u obou chronosekvencí. U rekultivovaných ploch je však nárůst znatelně rychlejší, čímž se potvrdila hypotéza (2), že se dusík akumuluje rychleji na rekultivovaných plochách. Nárůst celkového obsahu dusíku na zalesněných rekultivovaných plochách změřila i Šourková et al. (2005)

#### **(4) Obsah fosforu, celková zásoba fosforu**

U obsahu fosforu v jednotlivých vrstvách není na sukcesních plochách pozorován žádný trend. Jako možné vysvětlení se nabízí vysoký obsah fosforu ve výsypkovém substrátu. Ten se v miocénních jílech cyprisové formace, které se na Sokolovsku nacházejí, vyskytuje v poměrně velkém množství – až 1200 mg/kg půdy (Frouz et al., 2008). Sukcesní plochy jsou tedy fosforem velmi dobře zásobeny. Oproti tomu rekultivované plochy vykazují ve svrchních vrstvách poměrně vysoký nárůst, který potvrzuje hypotézu (4), že se fosfor akumuluje rychleji v povrchových vrstvách. Za 50 let vývoje až přibližně o 1000 mg/kg, zatímco v hlubších vrstvách je trend spíše opačný a zásoba se zmenšuje. Bradshaw (1983) ve své studii tvrdí, že rostliny jsou schopny vyzvedávat fosfor z hlubších vrstev půdy do svrchních, což by odpovídalo poklesu obsahu fosforu v nejhlubší zkoumané vrstvě rekultivovaných ploch a nárůstu obsahu ve vrstvách do 12 cm hloubky.

Celková zásoba fosforu žádné významné trendy v obou chronosekvencích nevykazuje. Hodnoty zůstávají po celou dobu vývoje podobné, i když se u sukcesních ploch dá pozorovat lehký růst, hodnoty se pohybují okolo 1500 g/m<sup>2</sup> a u rekultivovaných okolo 1600 g/m<sup>2</sup>. To odpovídá výzkumům, které provedli Šourková (2005) a Frouz a Kalčík (2006) na podobném místě. Naměřené hodnoty odpovídají vysokému obsahu fosforu v jílech cyprisové formace. Přesun fosforu rostlinami neměl vliv na celkovou zásobu fosforu v půdě do hloubky 18 cm.

## **(5) Hodnota pH**

Hodnota pH se na sukcesních plochách v prvních dvou vrstvách ve svém vývoji nijak nemění a zůstává lehce nad hodnotou 7. U ploch rekultivovaných to je obdobné, ale dá se vypočítat lehký pokles pH ve všech vrstvách. Klesající pH s věkem na sokolovských výsypkách zarostlých spontánní sukcesí vyšlo i Baldrianovi et al. (2008). Po 50 letech vývoje se už na nerektivovaných plochách dostane hodnota pH pod 7. Celkově ale pH odpovídá hodnotám, které mívá půda pod travními porosty. Oproti tomu na výsypkách, které jsou zalesněné, pH s časem výrazně klesá a hodnoty mohou klesnout i pod pH 6 (Frouz & Kalčík, 2006).

## **(6) Uhlík mikrobiální biomasy**

Obsahy uhlíku mikrobiální biomasy se pohybují u obou chronosekvencí okolo podobných hodnot 1000-2000 µg/g. Tyto výsledky potvrzují hypotézu (3), že se rozdíl mezi rekultivovanými a sukcesními plochami budou zmenšovat, zatímco hypotézu (1), že je na rekultivovaných plochách rozvoj půdně biologických vlastností rychlejší, vyvracejí. To by se dalo vysvětlit tím, že se v prvních 10 letech půda dosáhne 100% pokryvnosti rostlinami a umožní tak rozvoj mikroorganismů. Odtěžený materiál má obvykle velmi nízkou biologickou aktivitu (Frouz & Nováková, 2005) a v mnoha pracích je naznačeno, že vývoj mikrobiálních společenstev může trvat i 20 a více let, než se dostanou do podobného stavu

z hlediska biomasy a diverzity, jako jsou společenstva v nenarušených půdách (Insam & Domsch, 1988; Mummey et al., 2002a; Mummey et al., 2002b).

## **(7) Mikrobiální respirace**

Hodnoty mikrobiální respirace se u obou chronosekvencí pohybují shodně celou dobu okolo 2  $\mu\text{g/g}$  půdy/h. Což opět potvrzuje hypotézu (3) předpokládající, že mezi chronosekvencemi nebude významný rozdíl a vyvrací hypotézu (1), která očekávala, že respirace bude stoupat v čase. Nepozorovatelný či malý nárůst by se dal vysvětlit tím, jak je již napsáno výše, že v prvních 10 letech půda zaroste a umožní rychlý tak rozvoj mikroorganismů. Dalším vysvětlením by mohlo být velké množství kořenových výměšků, které produkují traviny. Tyto výměšky podporují vysokou mikrobiální aktivitu (Helingerová et al., 2010), což by vysvětlovalo vysokou mikrobiální respiraci na počátku vývoje. Také může dojít k využití fosilního uhlíku obsaženého ve výsypkových substrátech mikroorganismy (Kříbek et al., 1998). Kuzyakov et al. (2000) zjistili, že využití fosilního uhlíku mikroorganismy může být zvýšeno právě kořenovými exudáty.

## **(8) Obsah ergosterolu**

Obsah ergosterolu nevyšel ani u jedné chronosekvence signifikantní, avšak u sukcesních ploch se dá pozorovat lehký nárůst, což by odpovídalo výsledkům z práce Baldriana et al. (2008) a potvrzovalo hypotézu (1), že se půdně biologické vlastnosti rozvíjejí rychleji na rekultivovaných plochách. Ti ve svém výzkumu na sokolovských výsypkách zjistili nárůst ergosterolu s časem na plochách zarostlých spontánní sukcesí. Vyšší obsah ergosterolu na rekultivovaných plochách ukazuje na větší množství houbových dekompozitorů v půdě (Baldrian et al., 2008), jejichž spory se tam mohly dostat v navezené



ornici a způsobit tak jejich rychlejší rozvoj. Další možností by mohl být větší výskyt mykorhizních druhů rostlin na rekultivovaných plochách.

## 6. Závěry

- ❖ Celková zásoba uhlíku se s časem zvyšuje pouze na rekultivovaných plochách, ne u ploch sukcesních, ty ale mají od začátku celkově obsah uhlíku vyšší a to díky fosilnímu uhlíku.
- ❖ Ve svrchních vrstvách půdy se na zatravněných plochách uhlík hromadí více díky mělkým kořenovým systémům travin, ale v hlubších vrstvách mohou být výsledky ovlivněny výsypkovým substrátem.
- ❖ Objemová hmotnost se na obou chronosekvencích snižuje díky hromadění organické hmoty v půdě.
- ❖ Dusík se na rekultivovaných plochách hromadí více patrně díky symbiotickým bakteriím jetelovin fixujícím vzdušný dusík do půdy.
- ❖ Vysoký obsah fosforu na sukcesních plochách je dán vysokým obsahem P v původním substrátu (hlušině).
- ❖ Rostliny dokáží přesunout fosfor z hlubších vrstev půdy do svrchnějších.
- ❖ Celková zásoba fosforu se v obou chronosekvencích s časem téměř nemění.
- ❖ U obou chronosekvencí je u pH pozorován lehký pokles v čase.
- ❖ Hodnoty mikrobiální respirace a uhlíku mikrobiální biomasy jsou u obou chronosekvencí podobné.

- ❖ Obsah ergosterolu je na rekultivovaných plochách celkově vyšší než na plochách sukcesních a jeho obsah s věkem roste.
- ❖ Obsah uhlíku mikrobiální biomasy a mikrobiální respirace se mezi rekultivací a sukcesí neliší a jejich hodnoty se s věkem nemění.

## 7. Seznam použité literatury

Anderson J. D., Ingram L. J., Stahl P. D., 2008: Influence of reclamation management practices on microbial biomass carbon and soil organic carbon accumulation in semiarid mined lands of Wyoming, *Applied soil ecology* 40: 387-397.

Abdul- Kareem A. W., McRae S. G., 1984: The effects on topsoil of long-term storage in stockpiles, *Plant and Soil* 76: 357-363.

Baldrian P., Trögl J., Frouz J., Šnajdr J., Valášková V., Merhautová V., Cajthaml T., Herinková J., 2008: Enzyme activities and microbial biomass in topsoil layer during spontaneous succession in spoil heaps after brown coal mining, *Soil Biology and Biochemistry* 40 (9): 2107 – 2115.

Borůvka L., Kozák J., Mühlhanslová M., Donátová H., Nikodem A., Němeček K., Drábek O., 2012: Effect of covering with natural topsoil as a reclamation measure on brown-coal mining dumpsites, *Journal of Geochemical Exploration* 113: 118–123.

Bradshaw A. D., 1983: The reconstruction of ecosystems, *Journal of Applied Ecology* 20: 1–17.

Bradshaw A., 1997: Restoration of mined lands—using natural processes, *Ecological Engineering* 8: 255–269.

Bradshaw A., 2000: The use of natural processes in reclamation— advantages and difficulties, *Landscape and Urban Planning* 51(2-4): 89-100.

Brady N. C., Weil R. R., 2008: *The Nature and Properties of Soils*, Pearson Education, Inc., Upper Sadle River, New Jersey, 975pp

Carter M. R., 2002: Soil quality for sustainable land management: organic matter and aggregation interactions that maintain soil functions, *Agron Journal* 94: 38-47.

Chatterjee A., Lal R., Shrestha R. K., Ussiri D. A. N., 2009: Soil carbon pools of reclaimed minesoils under grass and forest landuses, *Land Degradation & Development* 20: 300-307

Dimitrovský K., 1976: *Forestry reclamation of anthropogenous soils in the area of Sokolov lignite distric*, Výzkumný ústav meliorací, Praha, 220pp

Fettweis U., Bens O., Hüttl R. F., 2005: Accumulation and properties of soil organic carbon at reclaimed sites in the Lusatian lignite mining district afforested with *Pinus* sp., *Geoderma* 129(1-2): 81-91.

Frouz J., 1999: Návrat přírody do krajiny poznamenané těžbou, Sokolovská uhelná a.s., Sokolov, 16pp

Frouz J., 2011a: Rozvoj půd jako základní předpoklad obnovy ekosystémových služeb na těžce disturbovaných plochách, Acta Environmentalica Universitas Comeniane (Bratislava), Supplement 19: 66-70.

Frouz J., 2011b: Rekultivace levněji a lépe. Ekologie a společnost 6(11): 11-15.

Frouz J. (ed.), 2014: Soil Biota and Ecosystem Development in Post Mining Sites, CRC Press, Boca Raton, 306pp

Frouz J., Kalčík J., 2006: Accumulation of soil organic carbon in relation to other soil characteristic during spontaneous succession in non reclaimed colliery spoil heaps after brown coal minig near Sokolov (The Czech Republic), Ekológia 25: 388-397.

Frouz J., Keplin B., Pižl V., Tajovský K., Starý J., Lukešová A., Nováková A., Balík V., Háněl L., Materna J., Düker Ch., Chalupský J., Rusek J., Heinkele T., 2001: Soil biota and upper soil layer development in two contrasting post-mining chronosequences, Ecological Engineering 17: 275–284.

Frouz J., Křišťfek V., Bastl J., Kalčík J. a Vaňková H., 2005: Determination of toxicity of spoil substrates after brown coal minig using a laboratory reproduction test *enchytraeus crypticus* (oligochaeta), Water, Air, and Soil Pollution 162: 37–47.

Frouz J., Nováková A., 2005: Development of soil microbial properties in topsoil layer during spontaneous succession in heaps after brown coal mining in relation to humus microstructure development, Geoderma 129: 54– 64.

Frouz J., Prach K., Pižl V., Háněl L., Starý J., Tajovský K., Materna J., Balík V., Kalčík J., Řehounková J., 2008: Interactions between soil develepment, vegetation on soil fauna during spontaneous succession in post mining sites, European Journal of Soil Biology 44: 109-121.

Frouz J., Popperl J., Přikryl I., Štrudl J., 2007: Tvorba nové krajiny na Sokolovsku, Sokolovská uhelná, právní nástupce a.s., Sokolov, 26pp

Ganjugunte G. K., Wick A. F., Stahl P. D., Vance G. F., 2009: Accumulation and composition of total organic carbon in reclaimed coal mine lands, Land Degradation & Development 20: 156-175.

Gremlica T., Vrabec V., Cílek V., Zavadil V., Lepšová A., Volf O., 2013: Industriální krajina a její přirozená obnova, Novela bohémica, Praha, 109pp

Helingerová M., Frouz J., Šantrůčková H., 2010: Microbial activity in reclaimed and unreclaimed post-mining sites near Sokolov (Czech Republic), *Ecological Engineering* 36: 768–776.

Ingram L. J., Schuman G. E., Stahl P. D., Spackman L. K., 2005: Microbial respiration and organic carbon indicate nutrient cycling recovery in reclaimed soils, *Soil Science Society of America Journal* 69: 1737-1745.

Insam H., Domsch K. H., 1988: Relationship between soil organic carbon and soil microbial biomass on chronosequences of reclamation sites, *Microbial Ecology* 15: 177 – 188.

Jochimsen M. E. A., 1996: Reclamation of colliery mine spoil founded on natural succession, *Water, Air, and Soil Pollution* 91: 99– 108.

Jongepierová I., Pešout P., Jongepier J. W., Prach K. (eds.) 2012: *Ekologická obnova v České republice*, Agentura ochrany přírody a krajiny České republiky, Praha, 147pp

Kabrna M. 2011: Studies of land restoration on spoil heaps from brown coal mining in the Czech Republic – a literature review, *Journal of Landscape Studies* 4: 59-69.

Kříbek B., Strnad M., Boháček Z., Sýkorová I., Čejka J., Sobalík Z., 1998: Geochemistry of Miocene lacustrine sediments from the Sokolov Coal Basin (Czech Republic), *International Journal of Coal Geology*, 37(3-4): 207–233.

Kuzyakov Y., Friedel J. K., Stahr K., 2000: Review of mechanisms and quantification of priming effects, *Soil Biology and Biochemistry* 32: 1485 – 1498.

Lal R., Kimble J. M., Follet R. F., Steward B. A. (eds.), 2001: *Assesment methods for soil carbon*, Lewis Publishers, Boca Raton, 676pp

Ledvina R., Horáček J., 1997: *Agrotechnické požadavky na zemědělské stroje - (část půdoznalství)*, Jihočeská univerzita - zemědělská fakulta, České Budějovice, 145pp

Mummey D. L., Stahl P. D., Buyer J. S., 2002a: Microbial biomarkers as an indicator of ecosystem recovery following surface mine reclamation, *Applied Soil Ecology* 21: 251 – 259

Mummey D. L., Stahl P. D., Buyer J. S., 2002b: Soil microbiological properties 20 years after surface mine reclamation: spatial analysis of reclaimed and undisturbed sites, *Soil Biology and Biochemistry* 34: 1717 - 1725

Němeček J., Smolíková L., Kutílek M., 1990. *Pedologie a paleopedologie*, Academia, Praha, 546pp

Novák P., Vopravil J., Lagová J., 2010: Assessment of the Soil Quality as a Complex of Productive and Environmental Soil Function Potentials, *Soil & Water Research* 5: 113–119.

Parton W. J., Schimel D. S., Cole C. V., Ojima D. S., 1987: Analysis of factors controlling soil organic matter levels in Great Plains Grasslands, *Soil Science Society of America Journal* 51: 1173 – 1179.

Piha M. I., Vallack H. W., Refler B. M., Michael N., Reeler B. M., 1995: A low input approach to vegetation establishment on mine and coal ash wastes in semi-arid regions: II. Lagooned pulverized fuel ash in Zimbabwe, *Journal of Applied Ecology* 32: 382– 390.

Plichta W., Gurto, wski M., 1989: A general analytical model of the process of humus mineralization and accumulation in soil, *Ecological Modelling* 44, Issues 3–4: 209–217.

Prach K., Pyšek P., 2001: Using spontaneous succession for restoration of human-disturbed habitats: Experience from Central Europe, *Ecological Engineering* 17: 55–62.

Rohošková M., Penížek V., Borůvka L., 2006: Study of Anthropogenic Soils on a Reclaimed Dumpsite and their Variability by Geostatistical Methods, *Soil & Water Res.*, 1, 2006 (2): 72–78.

Rojík P., 2004: New stratigrafic subdivison of the Tertiary in the Sokolov Basin in Northwestern Bohemia, *Journal of the Czech Geological Society* 49, 173-186.

Řehounek J., Řehouňková K., Prach K. (eds.), 2010: *Ekologická obnova území narušených těžbou nerostných surovin a průmyslovými deponiemi*, Calla, České Budějovice, 172pp

Sáňka M. a Materna J., 2004: Indikátory kvality zemědělských a lesních půd ČR, *Planeta* 11/2004: 1-84.

Silveira M. L., Comerford N. B., Reddy K. R., Cooper W. T., El-Rifai H., 2008: Characterization of soil organic carbon pools by acid hydrolysis, *Geoderma* 144 (1-2): 405 – 141.

Simpson, M. J., Simpson, A. J., 2012: The chemical ecology of soil organic matter molecular constituents. *Journal of chemical ecology* 38(6), 768–84.

Shrestha R. K., Lal R., 2010: Carbon and nitrogen pools in reclaimed land under forest and pasture ecosystems in Ohio, USA, *Geoderma* 157: 196-205.

Shrestha R. K., Lal R., Jacinthe P. A., 2009: Enhancing carbon and nitrogen sequestration in reclaimed soils through organic amendments and chiseling, *Soil Science Society of America Journal* 73: 1004-1011

Starý J., Sitenský I., Mašek D., Hodková T., Kavina P., 2013: *Surovinové zdroje České republiky, nerostné suroviny 2013*, Česká geologická služba, Praha, 305pp

Šourková M., Frouz J., Šantrůčková H., 2005: Accumulation of carbon, nitrogen and phosphorus during soil formation on alder spoil heaps after brown-coal mining, near Sokolov (Czech Republic), *Geoderma* 124: 203-214

Štýs S. a kol., 1981: Rekultivace území postižených těžbou nerostných surovin, SNTL - Nakladatelství technické literatury, Praha, 678pp

Štýs S., 1990: Rekultivace území devastovaných těžbou nerostů, STNL – Nakladatelství technické literatury, Praha, 186pp

Tang J., Mo Y., Zhang J., Zhang R., 2011: Influence of biological aggregating agents associated with microbial population on soil aggregate stability, *Applied Soil Ecology* 47, Issue 3: 153-159.

Tropek R., Kadlec T., Hejda M., Kocarek P., Skuhrovec J., Malenovsky I., Vodka I., Spitzer L., Banarh P., Konvicka M., 2012: Technical reclamations are wasting the conservation potential of post-mining sites. A case study of black coal spoil dumps, *Ecological Engineering* 43: 13 - 18.

Ussiri D. A. N., Lal R., 2005: Carbon Sequestration in Reclaimed Minesoils, *Critical Reviews in Plant Sciences*, 24: 151 - 165.

Vaněk V., Kolář L., Pavlíková D., 2006: Úloha organické hmoty v půdě, *Racionální použití hnojiv - sborník z konference*, ISBN 978-80-213-2006-2.

Vindušková O., Frouz J., 2013: Soil carbon accumulation after open-cast coal and oil shale mining in Northern Hemisphere: a quantitative review, *Environmental Earth Sciences* 69:1685–1698

Vráblíková J., Vráblík P., 2008: Aplikovaná pedologie, Univerzita J. E. Purkyně v Ústí nad Labem, Fakulta životního prostředí, Ústí nad Labem, 147pp

Vráblíková J., Slavík L., 1994: Základy pedologie a ochrany půdního fondu, Nadace Univerzitního střediska životního prostředí při FŽP UJEP Ústí n.L., Ústí nad Labem, 155pp

Wick A. F., Stahl P. D., Ingram L. J., Vicklund L. 2009: Soil aggregation and organic carbon in short-term stockpiles, *Soil Use and Management* 25: 311-319.

Zbíral J., Malý S., Váňa M a kol., 2011: Analýza půd III, Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, Brno, 253pp



#### INTERNETOVÉ ZDROJE:

Akala V. A., Lal R., 2001: Soil Organic Carbon Sequestration in Reclaimed Minesoils, National energy technology laboratory, dostupné online: [http://www.netl.doe.gov/publications/proceedings/01/carbon\\_seq/5c4.pdf](http://www.netl.doe.gov/publications/proceedings/01/carbon_seq/5c4.pdf), cit. 22. 7. 2014

Bot A., Benites J., 2005: The importance of soil organic matter, Natural Resources Management and Environment Department, dostupné online: <http://www.fao.org/docrep/009/a0100e/a0100e00.HTM>, cit. 23. 7. 2014

Jacinthe P. A., Lal R., Ebinger M., 2003: Land-use options for carbon sequestration in reclaimed mined lands, National energy technology laboratory, dostupné online: <http://www.netl.doe.gov/publications/proceedings/03/carbon-seq/PDFs/105.pdf>, cit. 22. 7. 2014

Schumacher B. A., 2002: Methods for the determination of total organic carbon (TOC) in soils and sediments, dostupné online: <http://epa.gov/esd/cmb/research/papers/bs116.pdf>, cit. 4. 8. 2014